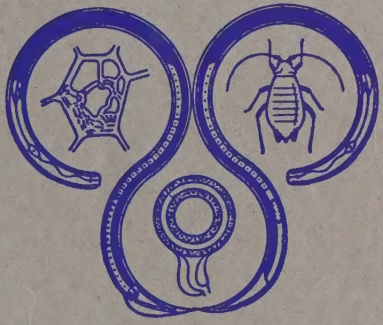
COMMONWEALTH INST.
ENTOMOLOGY LIBRARY
- 7 AUG 1957
TIAL Eu.86
EPARATE
EXD

TIJDSCHRIFT OVER PLANTEZIEKTEN

JAARGANG 63 - 1957

2e AFLEVERING



Uitgave van de

NEDERLANDSE PLANTEZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Onder Redactie van

Mej. H. L. G. DE BRUYN; Dr. J. A. A. M. H. GOOSSENS;
Prof. Dr. A. J. P. OORT; Mej. F. QUAK; Dr. J. P. H. VAN DER WANT
en Dr. H. J. DE FLUITER (Secretaris)

Redactie-adres: Instituut voor Planteziektenkundig Onderzoek,
Binnenhaven 4*a*, Wageningen

BESTUUR

VAN DE NEDERLANDSE PLANTEZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Dr. P. M. L. Tammes, Wageningen, *Voorzitter*
Ir. J. A. J. Veenenbos, Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen, *Secretaris*
Dr. A. P. Kole, Lab. v. Phytopathologie, Binnenhaven 4, Wageningen, *1e Penningmeester*. Postrekening no. 346310 ten name van Penningmeester van de Nederlandse Planteziektenkundige Vereniging te Wageningen
Mej. F. Quak, Binnenhaven 4a, Wageningen, *2e Penningmeesteresse*
A. van Herwijnen, St. Pancras
Dr. Ir. C. Mastenbroek, Hoofddorp
Prof. Dr. A. J. P. Oort, Wageningen
P. Smeding, Leeuwarden

Lidmaatschap Ned. Planteziektenkundige Vereniging

Nederland, Indonesië, Suriname en Curaçao f 7,50, België f 7,50, Buitenland f 8,50. Leden ontvangen het tijdschrift gratis.

Abonnement Tijdschrift

Nederland, Indonesië, Suriname en Curaçao f 10,—, België f 10,—. Buitenland f 13,50. Betalingen op postrekening 346310 t.n.v. Penningmeester Ned. Planteziektenkundige Vereniging te Wageningen.

Advertentiën

Prijzen per plaatsing: ⅛ pag. f 12,50; ¼ pag. f 20,—; ½ pag. f 30,—; 1 pag. f 55,—.
Bij 3 maal plaatsen van dezelfde advertentie 10 procent korting.
Bij 6 maal plaatsen van dezelfde advertentie 20 procent korting.

Voor plaatsing wende men zich tot de secretaris der Redactie-Commissie, p.a. Binnenhaven 4*a*, Wageningen, tel. 2151, of tot H. Veenman & Zonen, Wageningen, tel. 2242.

INHOUD

HOOFDARTIKELEN

Blz.

A. Fuchs, J. Grosjean, J. M. Krijthe & Th. W. Reijenga – Bacteriekanker bij steenvruchten. I. Symptomen en ziekteverloop bij kers en pruim *(Bacterial canker of stone fruits. I. Symptoms and course of the disease in cherry and plum trees)* . . . 33

A. Fuchs – Bacteriekanker bij steenvruchten. II. De identiteit van Pseudomonas morsprunorum Wormald en Pseudomonas syringae van Hall *(Bacterial canker of stone fruits. II. On the identity of Pseudomonas prunorum Wormald and Pseudomonas syringae van Hall)* 45

T. H. Thung & Tojib Hadiwidjaja – De heksenbezemziekte bij Leguminosen *(Witches broom disease of Leguminosae)* 58

VERENIGINGSNIEUWS

Algemene ledenvergadering 64

T. Pl.ziekten 63 (1957): 33–44

BACTERIEKANKER BIJ STEENVRUCHTEN [1])

I. SYMPTOMEN EN ZIEKTEVERLOOP BIJ KERS EN PRUIM

With a summary: Bacterial canker of stone fruits
I. Symptoms and course of the disease in cherry and plum trees

DOOR

A. FUCHS [2]), J. GROSJEAN [3]), Mej. J. M. KRYTHE [3]) en TH. W. REIJENGA [4])

Bij steenvruchten komt niet zelden bacteriekanker voor, een ziekte, veroorzaakt door twee nauwverwante *Pseudomonas*-soorten, nl. *Pseudomonas morsprunorum* WORMALD en *Pseudomonas syringae* VAN HALL.

Buiten Nederland is aan deze ziekte reeds vele jaren een intensieve studie gewijd. Na onderzoekingen over wellicht verwante bacterieziekten bij steenvruchten in het begin dezer eeuw (BRZEZINSKI, 1902; ADERHOLD & RUHLAND, 1907) werden door GRIFFIN (1911) en BARSS (1918) de symptomen van bacteriekanker voor het eerst duidelijk beschreven. Door GRIFFIN ook werd de verwekker ervan geïsoleerd en als *Pseudomonas cerasus* [5]) beschreven. Daarna zijn er vooral sinds 1928 vele publikaties aan deze ziekte gewijd; in Engeland in het bijzonder door WORMALD, in de Verenigde Staten door WILSON. Na de laatste wereldoorlog werden voorts in Engeland door CROSSE en in Nieuw Zeeland door DYE belangwekkende gegevens over bacteriekanker gepubliceerd.

In ons land is onderzoek betreffende deze ziekte eerst na wereldoorlog II begonnen. Nadat Mej. KRYTHE zich gedurende een aantal jaren (1947–1952) met de bestudering van het vraagstuk der bacteriekanker had beziggehouden, werd dit probleem ook geëntameerd door de Werkgroep voor Inwendige Therapie bij Planten. Zo werd onder leiding van GROSJEAN met bestrijdingsproeven tegen bacteriekanker begonnen; daarbij werd van 1953–1955 voor het doen van waarnemingen achtereenvolgens door REIJENGA en FUCHS geassisteerd. Laatstgenoemde heeft zich bovendien beziggehouden met een nadere bestudering van de symptomen en het verloop van deze ziekte bij kers en pruim.

De schade, door bacteriekanker veroorzaakt, is ook in ons land van niet te onderschatten betekenis. Ter illustratie kunnen de volgende gevallen worden vermeld.

Volgens gegevens van het Rijkstuinbouwconsulentschap te Kesteren wordt van de ca 1000 ha kerseboomgaarden in haar ambtsgebied, beplant met ca 100.000 bomen, jaarlijks 3–5% der bomen aangetast; hiervan behoort 1% tot het ras Meikers. Verder wordt vooral het ras Early Rivers gemakkelijk het slachtoffer van deze ziekte. In een boomgaard te Ewijk ging van 182 kersebomen in de loop van vier jaar een 27-tal dood; van de 119 exemplaren, die niet tot het ras Meikers behoorden, waren er slechts 24 vrij van stam- en takkankers.

[1]) Aangenomen voor publikatie 20-2-1957.
[2]) Thans werkzaam op het Laboratorium voor Microbiologie, Delft.
[3]) Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen.
[4]) Thans verbonden aan het Bureau Openbare Gezondheidszorg, Paramaribo, Suriname.
[5]) Deze bacterie, later – juister – *Pseudomonas cerasi* genoemd, wordt thans identiek geacht met *Pseudomonas syringae*.

Ook bij pruimen kan de ziekte zeer veel schade aanrichten; ernstig lijdt vooral het ras Ontario.

In ons onderzoek is in 't bijzonder aandacht besteed aan de symptomen van kers en pruim, omdat deze gewassen in ons land het meest te lijden hebben. Dat wil niet zeggen, dat deze ziekte niet ook bij andere steenvruchten voorkomt; zo kunnen nog worden genoemd: abrikoos, amandel, nectarijn, perzik en zure kers; voorts *Prunus pissardii* (syn. *P. cerasifera* var. *atropurpurea*), *Prunus sibirica* en *Prunus triloba* (WILSON, 1933; WORMALD, 1938, 1941–1942, 1943; MILLTHORPE & VINCENT, 1946; CROSSE, 1953; DYE, 1954).

DE SYMPTOMEN VAN BACTERIEKANKER BIJ KERSEBOMEN

Literatuurgegevens (WORMALD, 1928, 1937, 1938, 1939; CROSSE, 1954, 1955, 1956)

Bacteriekanker kan in vrijwel alle delen van de boom optreden. Indien de stam of de takken worden geïnfecteerd, ontstaan necrosen, die zich meestal over cortex, phloëem en cambium uitstrekken; soms wordt ook het jonge hout aangetast. In het voorjaar doen zich deze laesies als enigszins ingezonken plekken voor, doordat ter plaatse de cambiumactiviteit is verstoord en geen secundaire diktegroei plaats heeft. De grens tussen de ingezonken plek en de omgevende bast [1]) is meestal vrij scherp. Dikwijls wordt ter plaatse gom afgescheiden. Snijdt men dergelijke plekken aan, dan blijkt het phloëem bruin verkleurd te zijn; er is een duidelijk contrast met de gezonde weefsels. Naarmate de zomer vordert, treedt calluswoekering van het omgevende niet aangetaste cambium op; tengevolge daarvan scheurt de bast veelal en zakt ter plaatse van de kanker in.

Soms kunnen deze kankers zich snel rondom de tak uitbreiden, waarbij de tak wordt „geringd". In dit geval wordt de naar beneden gerichte stroom der assimilaten onderbroken, hetgeen niet zelden leidt tot een verdikking van de tak vlak boven de kankerplek. Het „geringd"-zijn van een tak openbaart zich veelal door een kleiner blijven en later bleekgroen tot geelachtig worden van de bladeren, waarbij de bladranden min of meer ineenrollen. Dit kan gevolgd worden door verwelking der bladeren en door algeheel afsterven van het gehele boven de kanker gelegen deel van de boom. Een ander gevolg van deze „ringing" kan het optreden van stamopslag zijn, waarbij sterke, gezonde scheuten onder aan de stam worden gevormd.

Naast een aantasting van stam en takken, die in zeer vele gevallen van snoeiwonden uitgaat, is ook infectie van korte loten en blad- en bloemknoppen mogelijk, die dan in deze gevallen volgens CROSSE (1951, 1955, 1956) in het najaar via de bladlittekens plaats heeft. Hierdoor treedt veelal knopsterfte op. Aan de basis van de knoppen, rond de bladlittekens, treft men vaak kleine laesies aan, die „ringing" van de twijg tengevolge hebben. Deze twijgsterfte, waarbij òf gehele twijgen òf alleen de einden ervan afsterven, komt vooral bij jonge bomen voor. Soms zet zich de laesie tot onder aan de twijg voort en kan aldus op de één jaar oudere tak overgaan.

Een aantasting van jonge groene scheuten kan tot scheutverwelking leiden; deze wijze van aantasting gaat veelal samen met het optreden van bladinfecties. De hierdoor zich vormende bladvlekken worden geleidelijk bruin. Ze hebben

[1]) Hier en elders niet op te vatten in plantenanatomische zin.

een enigszins hoekige, doch ook wel ronde vorm en zijn tot enkele millimeters groot. Later kunnen de necrotisch geworden plekjes uitvallen en zo aanleiding geven tot het zgn. hagelschot. Daarnaast kan een verdorring van de bladrand optreden.

Zeer zelden worden ook de bloesems door bacteriën geïnfecteerd: verwelking is er het gevolg van; vruchten worden eveneens weinig aangetast.

Eigen waarnemingen

In het onderzoek zijn een drietal kerseboomgaarden betrokken; zij zijn gelegen te Bemmel (omstreeks 1945 geplant), Haalderen (in 1948 geplant) en Malden (in 1947 geplant). In deze boomgaarden zijn de volgende rassen aangeplant: Early Rivers, Inspecteur Löhnis, Meikers, Udense Zwarte en Varikse Zwarte. Alle bomen zijn hoogstammen, met uitzondering van die van het ras Meikers in de boomgaard te Haalderen.

Bacteriekanker treedt in de door ons onderzochte bomen met alle bovenbeschreven symptomen in sterk wisselende mate op. De meest aangetaste rassen zijn Early Rivers (van ca 500 door ons onderzochte bomen te Malden was in 1955 slechts 25% gezond, 50% licht tot matig en 25% zwaar aangetast) en Meikers (van ca 200 bomen te Bemmel was in hetzelfde jaar 54% gezond, 35% licht tot matig en 11% zwaar aangetast). De ernstigste aantastingen bevinden zich hierbij vooral in de „oksel", d.w.z. aan de basis der gesteltakken. In vele gevallen is afsterven van grote gesteltakken hiervan het gevolg. Meestal ontwikkelen de kankers zich rondom groeischeuren in de bast, vaak ook rondom snoeiwonden. Op de stam en takken is het aantal door ons waargenomen kankers betrekkelijk gering, hoewel ook hier toch veelal laesies aangetroffen zijn.

De meeste kankers verraden hun aanwezigheid door de vorming van soms zeer aanzienlijke hoeveelheden gom. Deze gomvorming wordt vaak zowel in zeer vochtige als in zeer zonnige en droge zomers gedurende het gehele jaar waargenomen; zij bereikt dikwijls pas in Augustus een hoogtepunt.

Bij een hevige aantasting kan een verwelking van de bladeren aan alle of aan een deel der takken daarvan het gevolg zijn. Deze verwelking wordt veelal ingeleid door een verkleuring van het blad, van bronsgroen tot – later – bleekgroen en geel. Bovendien kan dan vaak de karakteristieke inrolling der bladranden optreden. Tenslotte kan de gehele boom verwelken en afsterven. Nu eens treedt deze verwelking vroegtijdig, dan weer pas tijdens de zomermaanden op; in Malden droegen in 1955 talrijke exemplaren (Early Rivers) vroegtijdig roodgekleurd blad en trad reeds in het begin van september een sterke bladval op.

Stamopslag treedt soms in aanzienlijke mate op; het zijn vooral een aantal bomen met ernstige verwelkingsverschijnselen van het ras Meikers te Bemmel, die hierdoor opvallen. Een duidelijke aantasting der twijgen werd door ons niet vaak aangetroffen. Niet zelden komen aangetaste korte loten voor; in Malden is knopsterfte aan korte loten en éénjarige scheuten een vrij vaak optredend symptoom. Ondanks het vochtige jaargetijde was het optreden van bladvlekken en hagelschot in de drie bedoelde boomgaarden in 1954 opvallend gering; in 1955 daarentegen trad hagelschot in de boomgaard te Malden in tegenstelling tot die in Bemmel en Haalderen in zeer hevige mate op. Aangetaste bloesems en vruchten zijn door ons niet met zekerheid waargenomen.

De symptomen van bacteriekanker bij pruimebomen

Literatuurgegevens (Wormald, 1928, 1930, 1931, 1932, 1934, 1937)

De symptomen, door Wormald voor pruime- en kersebomen beschreven, komen sterk met elkaar overeen; hij geeft echter ook een aantal verschillen aan.

Naar zijn mening komen takkankers bij pruimebomen minder voor dan bij kersebomen; bij de eerste zou ook het afsterven van gesteltakken minder optreden, zelfs indien stamkankers aanwezig zijn.

De gomvorming is bij pruimen minder uitgesproken en treedt bovendien minder geregeld op.

Scheutaantasting komt bij pruimen meer voor; de laesies doen zich hier voor als geïsoleerde, donkere, gewoonlijk iets ingezonken plekjes; het donkere centrum wordt door een lichtere zone omgeven; deze is op zijn beurt begrensd door een donkere lijn. Deze plekjes zijn aanvankelijk enige millimeters groot, doch kunnen zich tot enkele centimeters lange, langgerekte laesies uitbreiden. Door deze aantastingen kan de ontwikkeling der scheuten sterk worden geremd.

Ook bij pruimebomen kunnen de bladeren worden aangetast, waardoor bladvlekken ontstaan; de vlekken zijn hier door een lichtere zone omgeven. Het symptoom der bladvlekken treedt volgens Wormald bij pruimen in mindere mate dan bij kersen op.

Eigen waarnemingen

Ook bij dit onderzoek zijn een drietal boomgaarden betrokken geweest en wel die behorende bij het Laboratorium voor Phytopathologie en het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek te Wageningen[1]) (in 1946 geplant) alsmede boomgaarden te Heteren (in 1945 geplant) en Kerkdriel[1]) (omstreeks 1942 geplant). Het vermelde heeft vooral betrekking op het ras Ontario, hoewel in Heteren ook een aantal andere rassen werd onderzocht (Burbank Giant, Czar, Early Laxton, Monsieur hâtif, Reine Claude d'Althann, Reine Claude d'Oullins, Victoria en Zoete Kwets). Alle bomen zijn laagstammen, behalve die, behorende tot het ras Zoete Kwets.

Evenals in kerseboomgaarden komt bacteriekanker in pruimeboomgaarden in zeer grote verscheidenheid voor. Bij het ras Ontario treden de takkankers sterk op de voorgrond. Van vele bomen zijn vrijwel alle gesteltakken door meer of minder uitgebreide kankers aangetast. Zelden echter worden ze zo groot als bij kersebomen; in tegenstelling tot datgene, wat Wormald hieromtrent opmerkt, komen bij pruimen – althans bij het ras Ontario – veel meer takkankers voor dan bij kersen. De kankers bevinden zich veelal, doch lang niet altijd even duidelijk, aan de basis der kleinere zijtakken. Vooral in de boomgaard te Kerkdriel en in enkele bomen te Heteren was het aantal dode gesteltakken aanzienlijk. Zelden werden door ons stam- of „oksel"-kankers aangetroffen.

De vorming van gom is, althans bij het ras Ontario, meestal zeer overvloedig; in geen der andere rassen treedt noemenswaardige gomproductie op.

Zeer opvallend is de sterke knopsterfte, die men bij het ras Ontario aantreft; vooral aan de snel groeiende lange loten blijken vaak vele knoppen dood te zijn; aan de basis ervan – d.w.z. rond de een jaar eerder ontstane bladlittekens – treft men veelal laesies aan. In dit geval treedt veelal een versterkte scheutvor-

[1]) Hier bleef het onderzoek echter tot het ras Ontario beperkt; de boomgaard te Kerkdriel is na het seizoen 1954 gerooid.

ming onder aan de twijgen op, die de boom plaatselijk een karakteristiek bossig uiterlijk geeft. Het is dit kenmerk, waardoor zich de bacteriekanker in de Ontario's te Kerkdriel in het bijzonder openbaarde.

Uit een nauwkeurige analyse van een 36-tal twijgen in 6 Ontario-pruimebomen is gebleken, dat van enige uitbreiding der laesies in de twijgen in het voorjaar van 1954 geen sprake was. Deze laesies deden zich voor als ovale, iets ingezonken, enigszins rood tot zwart-bruin gekleurde plekjes van een nogal wisselende grootte, tot ongeveer 20 mm lang. Meestal bevonden ze zich aan de basis der knoppen, hoewel toch talloze uitzonderingen op deze regel voorkwamen. Een aantal der laesies had kennelijk reeds zeer vroeg na het optreden der infecties de desbetreffende twijgjes „geringd"; topsterfte was er het gevolg van. Soms waren de in het afgestorven gedeelte der twijgjes aanwezige knoppen nog zeer weinig ontwikkeld, in andere gevallen echter al aan een begin van ontluiken toe. Aan de nog levende delen der twijgjes liepen de meeste knoppen uit, tenzij ze aan hun basis nogal sterk waren aangetast. In het laatste geval werd soms vrij overvloedig gom gevormd. Bij enige topsterfte vertonende twijgjes viel het op, dat de uit de knoppen ontstane loten in het algemeen langer waren, naarmate zij zich dichter bij het afgestorven gedeelte bevonden.

Bladvlekken treft men, althans bij het ras Ontario, zeer veelvuldig aan. Zij doen zich voor als bruine vlekken, veelal zeer duidelijk omgeven door een lichtgroene zone. Deze is van het gezonde weefsel gescheiden door een „breuklijn", waarlangs zich later het hierbinnen gelegen deel van de rest van het blad scheidt, zodat hagelschot ontstaat. De bladvlekken hebben vaak een zeer onregelmatige vorm; bij gevoelige rassen zoals Ontario kunnen zij tot groter complexen „samenvloeien".

Aantastingen van vruchten zijn door ons niet met zekerheid geconstateerd.

Het verloop van de ziekte gedurende de verschillende seizoenen

Literatuurgegevens

In het verloop van deze ziekte worden door Wormald, Crosse, e.a. twee phasen onderscheiden. In het winterhalfjaar houden de bacteriën zich volgens deze auteurs in stam en takken op; in het daaropvolgende voorjaar breiden de aangetaste plekken zich sterk uit en worden zij duidelijk zichtbaar.

In dit seizoen ook kan infectie der bladeren plaats hebben. Omtrent de wijze, waarop deze infectie plaats heeft, verkeert men volgens Wormald (1938) in het onzekere; men houdt rekening met twee mogelijkheden: a. een transport door insecten of spattend water van de stam- en taklaesies uit, b. een infectie uitgaande van de reeds te voren geïnfecteerde bladknoppen. Bladvlekken en hagelschot treft men gewoonlijk vooral in de nabijheid van takkankers aan. Dit hangt hoogstwaarschijnlijk samen met het transport van bacteriën door regenwater; ze kunnen in het langs de boom afvloeiende water of wel door spatten worden verbreid. Naarmate het voorjaar vordert, begint het symptoom der bladvlekken te overheersen, terwijl de bacteriën in de kankers afsterven.

In het najaar vindt een hernieuwde infectie van stam en takken plaats, waarvoor het inoculum door de afgevallen en afvallende bladeren geleverd wordt.

Volgens de opvatting van Wormald, Crosse, e.a. moet men dus van een

jaarlijkse cyclus spreken, die door twee phasen – een winterphase en een zomerphase – is gekenmerkt.

Omtrent de factoren, die het afsterven der bacteriën in de kankers tengevolge hebben, zegt BAGENAL (1940): „The bacteria gradually die out during the summer because conditions in the sap of the tree become unsuitable for them to live, and this is the reason why bacterial cankers do not continue to extend year after year as apple cankers do. In the autumn these trees run no more risk of infection by the bacteria than a healthy tree would".

Ten dele afwijkend van de opvatting van WORMALD, CROSSE, e.a. is de mening van ERIKSON (1945). Volgens haar heeft er ongetwijfeld tijdens de periode van maximale stofwisselingsintensiteit een reductie van het aantal der bacteriën plaats, doch van een algeheel afsterven is vrijwel zeker geen sprake. Dit maakt het mogelijk, dat de bacteriën ook nog in de zomer met succes uit stam- en takkankers kunnen worden geïsoleerd, ook al gaat dit vooral na Juni met meer moeilijkheden gepaard. Zij merkt dan ook op: „...it seems clear, that a few bacteria may survive in the deeper-seated tissues long after the majority have died in the main canker,...". Uit publikaties van WILSON (1933, 1939), MONTGOMERY et al. (1943) en MONTGOMERY & MOORE (1945) blijkt al evenzeer, dat de bacteriën, althans onder bepaalde omstandigheden, in geringe getale in de kankers kunnen overzomeren.

WILSON (1933, 1939) en ERIKSON (1945) hebben zich beziggehouden met een onderzoek naar de factoren, die de periodieke activiteit der kankers bepalen. WILSON (1939) concludeert, dat uitwendige invloeden (temperatuur, bodemfactoren) geen verklaring voor deze periodiciteit in kankerontwikkeling geven. Wel zijn er inwendige factoren, die de uitbreiding der kankers beïnvloeden; het is in het bijzonder de vorming van een periderm, kennelijk als reactie op de massale vermeerdering der bacteriën optredend, die als zodanig betekenis heeft. De vorming van dit periderm, dat de uitbreiding der bacteriën tot staan brengt, begint pas na de hervatting der normale cambiumactiviteit in het voorjaar; eerst dan dus vangt het stadium aan, waarin uitbreiding der kankers wordt tegengegaan.

Tegen de herfst, bij verlaagde stofwisselingsintensiteit, verliezen de tegen bacteriekanker niet resistente rassen blijkbaar de mogelijkheid zich tegen hernieuwde infecties van stam en takken op afdoende wijze te weer te stellen.

Eigen onderzoek

Uit eigen waarnemingen betreffende het verloop van de ziekte blijkt, dat de weersgesteldheid hierop klaarblijkelijk invloed uitoefent. In vele, doch vooral vochtige seizoenen kan – ook gedurende de zomer – vaak een onmiskenbare ontwikkeling van kankers worden geconstateerd. Daarbij houdt de gomvorming door zulke kankers niet zelden onverminderd aan; dit duidt zeker op activiteit der bacteriën. Gedurende het gehele seizoen in 1955 kon in vele gevallen zelfs van een „gomvloed" worden gesproken, waarbij niet zelden per boom enige honderden cm^3 werden uitgescheiden.

Daarbij komt, dat vele kankers kennelijk van jaar tot jaar in actieve toestand kunnen overblijven; bij vele der in 1953 onderzochte bomen hadden de toen waargenomen kankers in de daaropvolgende jaren weinig of niets van hun activiteit verloren. Het is onwaarschijnlijk, dat de activiteit van al deze kankers telkenmale door hernieuwde infecties in het najaar tot stand zou zijn gekomen.

Tenslotte is het mogelijk gebleken, de voor deze ziekte verantwoordelijke bacteriën tot in Augustus niet alleen uit bladeren, doch ook uit stam en takken te isoleren (FUCHS, ter perse). In dit verband moet echter wel worden vastgesteld, dat het resultaat van isolaties uit stam en takken in de zomer minder zeker is, dan in het voorjaar, zoals ook door ERIKSON (1945) werd ondervonden.

Deze door ons verkregen gegevens wettigen de veronderstelling, dat een uitgesproken jaarlijkse cyclus van twee phasen, zoals WORMALD en CROSSE deze aanwezig achten, althans onder door ons ervaren weersomstandigheden, niet behoeft voor te komen.

DE INFECTIE VAN STAM EN TAKKEN IN HET NAJAAR

Literatuurgegevens

In de zomer zijn de voor bacteriekanker verantwoordelijke organismen voornamelijk in de bladeren aanwezig, waar zij – zoals bekend is – tot de vorming van bladvlekken en hagelschot aanleiding geven. In het najaar daarop vindt een infectie van stam en takken plaats, waaruit zich kankers kunnen ontwikkelen. Deze infectie heeft, althans bij pruimen, zonder twijfel in belangrijke mate via snoeiwonden, groeischeuren, e.d. plaats (WORMALD, 1932, 1934; BAGENAL, 1940; MONTGOMERY et al., 1943); bij kersebomen kunnen echter ook knopinfecties (GRIFFIN, 1911; WILSON, 1933, 1936; WORMALD, 1937, 1938; WILSON & HEWITT, 1939) en infecties via de groefjes in het oppervlak der korte loten (GRIFFIN, 1911; GRUBB, 1937; WORMALD, 1937, 1938; WILSON & HEWITT, 1939; WEBB, 1950) een belangrijke rol spelen. WEBB vond zelfs, dat meer dan 90% der kankers in jonge kersebomen door een dergelijke infectie tot stand was gekomen; hierbij gaan de kankers van de korte loten op oudere takken over. Hierboven gaven wij reeds aan, dat ook bij het pruimeras Ontario knopinfecties van veel betekenis zijn.

Vaak worden evenwel de bladlittekens als de eigenlijke toegangswegen der bacteriën beschouwd. Het zijn MONTGOMERY & MOORE (1945), doch vooral CROSSE (1951, 1955, 1956), DYE (1954) en HARRIS (1954), die hieraan grote betekenis toekennen. Door middel van inoculatieproeven in bladlittekens heeft CROSSE (1951, 1956) deze hypothese kunnen bevestigen. Daarbij werd door een verwijdering van de bladschijf het afvallen van de bladsteel geïnduceerd; tot 8 dagen na het afvallen van de bladsteel had een deel der inoculaties, zonder dat daarbij verwondingen werden aangebracht, een positief resultaat. Aan deze hypothese is later een uitbreiding gegeven (HARRIS, 1954; CROSSE, 1955, 1956): de infectie zou in het bijzonder door vroeg in het najaar ontstane bladlittekens plaats hebben. Naarmate de herfst voortschrijdt, zouden zich in de boom bepaalde physiologische of anatomische veranderingen voordoen, waardoor de infectiemogelijkheid wordt beperkt.

WEBB (1950) daarentegen koestert twijfel omtrent de mogelijkheid, dat de bacteriën via de onder natuurlijke omstandigheden ontstane bladlittekens kunnen binnendringen. Hij merkt op: „The position of the infection (of fruiting spurs) suggests that the point of entry is not the freshly formed leaf scar, but the deep crevices in the bark of the spur". Zijn voorlopige experimenten toonden aan, dat inoculaties, langer dan één uur na de bladval uitgevoerd, niet altijd een positief resultaat opleverden.

Wat tenslotte de uitbreiding der kankers betreft, zijn er waarnemingen ge-

daan, die er op wijzen, dat er ook een inwendig transport van bacteriën door het vaatsysteem kan optreden, zonder dat uitwendige symptomen kunnen worden waargenomen, hoewel de afgelegde afstanden in deze gevallen gering zijn (WILSON, 1939).

Eigen onderzoek

Ook door ons werden proeven gedaan, waarbij infectie via – door verwijdering van het blad gevormde – bladlittekens mogelijk bleek.

Daarnaast werd evenwel nog aan een andere wijze van infectie gedacht, die vóór de bladval zou kunnen plaats hebben en van bladinfecties zou kunnen uitgaan. Zoals bekend dringen pathogene bacteriën via stomata, hydathoden en dergelijke openingen of wonden de bladeren binnen; ook voor bacteriekanker is dit aangetoond (CROSSE, 1953, 1954, 1955, 1956). Aangezien de huidmondjes zich bij alle *Prunus*-soorten uitsluitend aan de onderzijde van de bladschijf bevinden, kon dit door later te beschrijven inoculatieproeven (FUCHS, ter perse) op eenvoudige wijze worden bevestigd. Bacteriën op de bovenzijde van de bladschijf gebracht, geven nooit aanleiding tot bladvlekken; worden de bacteriën evenwel aan de onderzijde aangebracht, dan ontstaan bij vatbare rassen altijd vlekken.

Het zou nu mogelijk kunnen zijn, dat de bacteriën zich uit de vlekken via het vaatsysteem door de bladsteel naar de twijgen verplaatsen, waar zij dan nabij de basis van de bladsteel later tot laesies aanleiding zouden kunnen geven. Het gelukte uit bladeren van het ras Ontario, die op natuurlijke wijze geïnfecteerd waren de bacterie niet alleen uit de bladschijf te isoleren, doch ook uit de bladsteel, die geen uitwendig zichtbare laesies vertoonde (FUCHS, ter perse). Ook uit de bladstelen van in de bladschijf geïnoculeerde perzikbladeren (ras Wassenberger) kon de bacterie met succes worden teruggeïsoleerd.

Ter verdere staving van bovengenoemde veronderstelling werden op 30 juli 1954 met stam 9 (FUCHS, ter perse) kerse-, perzik- en pruimebladeren in de bladschijven geïnoculeerd (rassen resp. Varikse Zwarte, Wassenberger en Ontario). Bij de herisolatie werden de behandelde bladeren in drie delen (bladschijf, bladsteel en aangrenzend twijggedeelte) gescheiden; de bladschijven werden door een oppervlakkige alcoholbehandeling ontsmet, de bladstelen daarentegen, na afsluiten der snijvlakken met vaseline, gedurende $1\frac{1}{2}$ min. en de twijgjes, na eenzelfde behandeling, gedurende 2 min. door volledige onderdompeling in 0,2% sublimaat. In alle gevallen werd voor een volledige verwijdering van aan het oppervlak hechtende luchtbelletjes zorggedragen.

Het resultaat der herisolatieproeven is in tabel I vermeld (deze getallen hebben betrekking op 54 herisolaties):

TABEL I. Aantal geslaagde herisolaties, uit bladschijf, bladsteel en twijg, na inoculatie der bladschijven met de verwekker van bacteriekanker.

TABLE I. *Number of successful reisolations from leaf blade, petiole and twig, after inoculation of the blades with the bacterial canker organism*; 6 *tests each.*

	kers (*cherry*)	perzik (*peach*)	pruim (*plum*)
bladschijf (*leaf blade*)	6	6	6
bladsteel (*petiole*)	6	6	6
twijg (*twig*)	4	0	4

FIG. 1. Bacteriekanker bij pruim, ras Ontario; let op de ingezonken plekken en de gomvorming nabij de takoksels.
Bacterial canker in the plum variety Ontario; note depressions of the bark and gum production at the axils.

FIG. 2. Taksterfte en verwelking bij pruim, ras Ontario; let op het bossige uiterlijk der gezonde twijgen.
Dieback of branches and wilting of leaves in a plum tree, var. Ontario; note the characteristic bushy appearance of the healthy twigs.

FIG. 3. Taksterfte, verwelking en stamopslag bij kers, ras Meikers.
Dieback of branches, wilting of leaves and proliferation along the trunk in a cherry tree, var. Meikers.

In een aantal gevallen gaven isolatieproeven met niet geïnoculeerde bladeren en met bladeren, die aan de bovenzijde der bladschijf waren geïnoculeerd – tegen de verwachting in – een positief resultaat wat de isolaties uit de bladschijf betreft. In de laatste gevallen kon de bacterie dan bijna steeds eveneens uit de bladstelen worden geïsoleerd, doch slechts enkele malen uit de twijgen. Klaarblijkelijk zijn op de desbetreffende bladeren in de boomgaard door regenwater bacteriën terecht gekomen en naar binnen gedrongen, zonder dat daaruit tijdens het experiment (13 dagen) in alle gevallen laesies resulteerden. Een dergelijke ervaring werd opgedaan door CROSSE (1954), die vaststelde, dat zich op het oppervlak van volkomen gezond er uitziende bladeren tot een half millioen bacteriën kunnen bevinden.

Dat bij herhaling dezer proeven in 1955, waarbij op 9 juli werd geïnoculeerd, geen enkel resultaat ten aanzien van de isolaties uit bladstelen en twijgen werd verkregen, zal wellicht zijn oorzaak vinden in de weersomstandigheden tijdens het experiment. Vermoedelijk oefenen klimatologische factoren op deze infecties invloed uit, zoals deze ook natuurlijke infecties zeer sterk kunnen beïnvloeden; dit tweede experiment werd namelijk gedurende een ongewoon warme periode uitgevoerd, met dagelijkse maximumtemperaturen tot ca 35°C.

Samenvattend kan worden gezegd, dat de bacteriën na inoculatie in de bladschijf, althans onder bepaalde omstandigheden, na enige tijd niet alleen uit de bladschijf, doch ook uit de bladstelen en de twijgen kunnen worden geïsoleerd; daarmee is dus wel zeer waarschijnlijk gemaakt, dat de infectie der twijgen via de bladeren *kan* plaatsvinden, en dat deze dus ook vóór de bladval kan optreden. Deze veronderstelling wordt gesteund door waarnemingen, dat zich op de twijgen aan de basis van *nog niet afgevallen* bladeren laesies hadden ontwikkeld.

Onze waarnemingen omtrent de weg, waarlangs de infectie met de bacteriën plaats vindt, sluiten de mening van CROSSE e.a., dat de bladlittekens een belangrijke toegangsweg voor de bacteriën zouden vormen, geenszins uit: beide opvattingen zijn immers zeer wel verenigbaar.

SAMENVATTING

De symptomen van bacteriekanker bij kerse- en pruimebomen in Nederland komen in hoofdzaak met de door WORMALD en andere auteurs beschreven kenmerken overeen. Als de meest opvallende verschillen kunnen worden genoemd:

1e. In kersebomen zijn dikwijls vooral „okselkankers" sterk ontwikkeld. De gomproductie is soms zeer overvloedig en treedt gedurende nagenoeg het gehele jaar op. Het verwelken der bladeren wordt soms door een zeer vroege bladval gevolgd. Early Rivers en – hoewel in mindere mate – Meikers zijn de meest gevoelige rassen.
2e. Onder de pruimerassen blijkt vooral het ras Ontario zeer vatbaar; twijgsterfte is hier het meest in het oog lopende symptoom.

Het is niet zeer waarschijnlijk, dat onder alle klimatologische omstandigheden een duidelijk gescheiden winter- en zomerphase optreedt; geconstateerd werd, dat vele kankers ook in de zomer een onmiskenbare activiteit vertonen. Aangenomen wordt, dat de bacteriën, hoewel in gereduceerd aantal, in de kankers kunnen overblijven.

Bij inoculatie van de bladschijf kunnen de bacteriën veelal ook vóór de

bladval uit de twijgen worden geïsoleerd. Een infectie van de twijgen in het najaar heeft dan ook wellicht via de stomata en het vaatsysteem in bladschijf en bladsteel plaats.

Summary

As in other countries, in the Netherlands bacterial canker of stone fruits, caused by *Pseudomonas mors-prunorum* WORMALD and *Pseudomonas syringae* VAN HALL, can give rise to serious losses in cherry and plum orchards. Therefore, a study was made of the symptoms and the course of this disease, as it occurs in Holland.

Most symptoms as described in this article agree very well with those given in the literature by WORMALD and other authors. The main differences are the following:

1. In cherry trees crotch cankers prevailed and were often strongly developed. Gum production sometimes was very copious, and often occurred throughout the whole season. The wilting of the leaves in some cases was followed by a very early leaf fall in the beginning of September. Early Rivers, and to a lesser degree, Meikers were found the most susceptible varieties.
2. Among plum trees only the variety Ontario was very susceptible; in Holland in this variety dieback of twigs and young shoots appeared to be a more frequent symptom than branch or crotch cankers, contrary to what was found by WORMALD for plum varieties in general.

The presence of a distinct seasonal cycle of a winter canker phase and a summer leaf phase was not apparent under all climatological circumstances. Especially in wet summers cankers often could go on developing throughout the whole season; apparently, many individual cankers retained their activity for several consecutive years. Moreover, it was possible to isolate the bacteria from cankers up till August, although, especially after June, many such isolations were unsuccessful.

Artificial infection of the leaves without wounding had a positive result only if the inoculation had been done on the lower side of the leaf. Since in *Prunus* species the stomata are restricted to this side, apparently these are the main entrances for the infecting bacteria.

After inoculation of the bacteria in the leaf blades in 1954, it was possible to reisolate them 13 days later not only from the blades but also from petioles and twigs (Table I). On repeating this experiment in 1955 under extremely hot weather conditions with maximum temperatures up to 35°C the results, however, were negative. Thus, under certain conditions, it seems possible that the infection of the twigs in autumn takes places before leaf fall first via the stomata and then via the leaf vessels down to the twigs.

De eerst- en laatstgenoemde auteur betuigen gaarne hun dank aan Prof. Dr. A. J. P. OORT en Dr. M. H. VAN RAALTE voor de belangstelling bij hun onderzoek – door hen op het Laboratorium voor Phytopathologie te Wageningen verricht – ondervonden.

Literatuur

Aderhold, R. & W. Ruhland, – 1907. Der Bakterienbrand der Kirschbäume. Arb. Kaiserl. Biol. Anst. Land- und Forstwirtsch. 5: 293–340.

Bagenal, N. B., – 1940. Plum growing in the light of recent research. Ann. Rep. East Mall. Res. Sta., 1939: 79–84.

Barss, H. P., – 1918. Bacterial gummosis of stone fruits. Mon. Bull. Calif. Comm. Hort. 7: 121–135.

Brzezinski, F. P., – 1902. Etiologie du chancre et de la gomme des arbres fruitiers. C. R. Acad. Sci., Paris 134: 1170–1173.

Crosse, J. E., – 1951. The leaf scar as an avenue of infection for the cherry bacterial canker organism, Pseudomonas mors-prunorum. Nature 168: 560–561.

———, – 1953. Bacterial diseases of stone-fruit trees in Britain IX Bacteriosis of apricot. Trans. Brit. Mycol. Soc. 36: 38–45.

———, – 1954. Bacterial canker, leaf spot, and shoot wilt of cherry and plum. Ann. Rep. East Mall. Res. Sta., 1953: 202–207.

———, – 1955. Bacterial canker of stone fruits I Field observations on the avenues of autumnal infection of cherry. J. Hort. Sci. 30: 131–142.

———, – 1956. An epidemic leaf spot and spur wilt of cherry caused by Pseudomonas mors-prunorum. Ann. Rep. East Mall. Res. Sta., 1955: 121–125.

———, – 1956. Bacterial canker of stone-fruits II Leaf scar infection of cherry. J. Hort. Sci. 31: 212–224.

Dye, D. W., – 1954. Blast of stone-fruit in New Zealand. New Zeal. J. Sci. Techn., Sec. A 35: 451–461.

Erikson, D., – 1945. Certain aspects of resistance of plum trees to bacterial canker. Part II On the nature of the bacterial invasion of Prunus sp. by Pseudomonas mors-prunorum Wormald. Ann. App. Biol. 32: 112–117.

Fuchs, A., – 1957. Bacteriekanker bij steenvruchten. II. De identiteit van Pseudomonas mors-prunorum Wormald en Pseudomonas syringae van Hall. T. Pl.ziekten (ter perse).

Griffin, F. L., – 1911. A bacterial gummosis of cherries. Science 34: 615–616.

Grubb, N. H., – 1937. Bacteriosis of cherry trees: Relative susceptibility of varieties at East Malling. J. Pomol. Hort. Sci. 15: 25–34.

Harris, R. V., – 1954. Bacteriosis of cherry (Pseudomonas mors-prunorum). Leaf-scar infection. Ann. Rep. East Mall. Res. Sta., 1953: 37.

Millthorpe, F. L. & A. E. Vincent, – 1946. Bacterial canker of stone fruit. Agric. Gaz. New South Wales 57: 255–257.

Montgomery, H. B. S. & M. H. Moore, – 1945. The control of bacterial canker and leaf-spot in sweet cherry. J. Pomol. Hort. Sci. 21: 155–163.

———, ——— & T. N. Hoblyn, – 1943. A field trial of measures designed for the control of bacterial canker of Victoria plum trees. Ann. Rep. East Mall. Res. Sta., 1942: 53–61.

Webb, P. C. R., – 1950. Bacterial infection of fruiting spurs of sweet cherry (Pseudomonas mors-prunorum Wormald and Ps. prunicola Wormald). Ann. Rep. East Mall. Res. Sta., 1949: 120–121.

Wilson, E. E., – 1933. Bacterial canker of stone-fruit trees in California. Hilgardia 8: 83–123.

———, – 1936. Symptomatic and etiologic relations of the canker and the blossom blast of Pyrus and the bacterial canker of Prunus. Hilgardia 10: 213–240.

———, – 1939. Factors affecting development of the bacterial canker of stone fruits. Hilgardia 12: 259–290.

——— & W. B. Hewitt, – 1939. Host organs attacked by bacterial canker of stone fruits. Hilgardia 12: 249–255.

Wormald, H., – 1928. Bacterial diseases of stone-fruit trees in Britain I Preliminary note on bacteriosis in plum and cherry trees. Ann. Rep. East Mall. Res. Sta., 1926–1927, II Suppl.: 121–127.

———, – 1928. On the cause of „die-back" in plum trees. Gard. Chron. 84: 372–373.

———, – 1930. Bacterial diseases of stone-fruit trees in Britain II Bacterial shoot wilt of plum trees. Ann. App. Biol. 17: 725–744.

———, – 1931. Bacterial diseases of stone-fruit trees in Britain III The symptoms of bacterial canker in plum trees. J. Pomol. Hort. Sci. 9: 239–256.

———, – 1932. Bacterial diseases of stone-fruit trees in Britain IV The organism causing bacterial canker of plum trees. Trans. Brit. Mycol. Soc. 17: 157–169.

WORMALD, H., – 1932. Bacterial canker as a cause of dieback in plum trees. J. Min. Agric. 39: 208–217.
———, – 1932. Supplementary note on plum bacterial canker. J. Pomol. Hort. Sci. 10: 64.
———, – 1934. Bacterial diseases of stone-fruit trees in Britain V Some field observations and experiments on plum bacterial canker. Ann. Rep. East Mall. Res. Sta., 1933: 147–153.
———, – 1937. Bacterial canker in plum and cherry trees. Ann. Rep. East Mall. Res. Sta., 1936: 297–301.
———, – 1937. Bacteriosis of stone-fruit trees in Britain VI Field observations on bacteriosis of sweet cherry trees. J. Pomol. Hort. Sci. 15: 35–48.
———, – 1938. Bacterial diseases of stone-fruit trees in Britain VII The organisms causing bacterial diseases in sweet cherries. J. Pomol. Hort. Sci. 16: 280–290.
———, – 1938. Two ornamental shrubs as hosts of the organism causing plum bacterial canker. Ann. Rep. East Mall. Res. Sta., 1937: 198–200.
———, – 1939. Bacterial rot of cherry fruits. Ann. Rep. East Mall. Res. Sta., 1938: 173–175.
———, – 1941–1942. Bacterial diseases of stone-fruit trees in Britain VIII Bacterial canker of peach. Trans. Brit. Mycol. Soc. 25: 246–249.
———, – 1943. Bacterial diseases of acid cherry trees. Ann. Rep. East Mall. Res. Sta., 1942: 61–62.

T. Pl.ziekten 63 (1957): 45–57

BACTERIEKANKER BIJ STEENVRUCHTEN[1])

II. DE IDENTITEIT VAN *PSEUDOMONAS MORS-PRUNORUM* WORMALD EN *PSEUDOMONAS SYRINGAE* VAN HALL

With a summary: Bacterial canker of stone fruits

II. On the identity of Pseudomonas mors-prunorum Wormald and Pseudomonas syringae van Hall

DOOR

A. FUCHS [2])

De symptomen van bacteriekanker werden voor het eerst duidelijk beschreven door GRIFFIN (1911) en BARSS (1918); de eerstgenoemde auteur gaf aan de verwekker ervan ook zijn naam: *Pseudomonas cerasus*, later verbeterd in *Pseudomonas cerasi*.

Aanvankelijk onafhankelijk van deze Amerikaanse onderzoekingen, beschreef WORMALD in een reeks van publikaties de symptomen en verwekkers van bacteriekanker, zoals deze in Engeland optreden. Hij onderscheidde daarbij een tweetal micro-organismen, door hem onder de namen *Pseudomonas prunicola* (1930, 1938) en *Pseudomonas mors-prunorum* (1932, 1938) beschreven. Beide bacteriën kunnen – althans bij kers en pruim – alle symptomen van bacteriekanker veroorzaken, hoewel *Pseudomonas prunicola*, wat pruimebomen betreft, slechts uit verwelkte groene scheuten geïsoleerd kon worden (WORMALD, 1930). Kunstmatige inoculaties met laatstgenoemde bacterie gaven hier echter ook in andere delen der bomen een positief resultaat.

WILSON noemt in zijn onderzoekingen aanvankelijk (1933) *Pseudomonas cerasi* en *Pseudomonas prunicola* – die hij als een variëteit van de eerste soort beschouwt (*Pseudomonas cerasi* var. *prunicola*) – als mogelijke verwekkers van alle symptomen van bacteriekanker bij abrikoos, amandel, kers, nectarijn, perzik en pruim. In latere publikaties (1936, 1940) spreekt hij echter als zijn overtuiging uit, dat deze soorten alle aan elkaar gelijk zijn en identiek met de door VAN HALL (1902) beschreven soort *Pseudomonas syringae*. Hierbij sluiten andere auteurs (CROSSE, 1954; DYE, 1954) zich tegenwoordig aan, zodat thans voor het optreden van bacteriekanker gewoonlijk twee bacteriesoorten verantwoordelijk gesteld worden: *Pseudomonas mors-prunorum* WORMALD en *Pseudomonas syringae* VAN HALL.

Het was het doel van dit onderzoek, na te gaan, of deze beide bacteriesoorten ook als de veroorzakers van de in ons land geconstateerde symptomen van bacteriekanker (FUCHS et al., 1957) kunnen worden onderscheiden.

DE ISOLATIE VAN DE VOOR BACTERIEKANKER VERANTWOORDELIJKE ORGANISMEN

De wijze van isolering liep al naar de aard van het materiaal enigszins uiteen. Bij isolaties uit stam- en takkankers werden op de grens van aangetast en ge-

[1]) Aangenomen voor publikatie 20-2-1957.

[2]) Thans werkzaam op het Laboratorium voor Microbiologie, Delft.

zond weefsel oppervlakkig stukken van de bast[1]) verwijderd. De cortex en het phloeem zijn op deze plaatsen bruin gekleurd; veelal wordt gom uitgeperst. Na een ontsmetting van het buitenoppervlak met 96%-ige alcohol en verwijdering der buitenste kurklagen werden kleine stukjes uitgesneden en uitgelegd op platen met peptonagar-5% saccharose. Daarnaast werden aangetaste weefselstukjes in steriel water gesuspendeerd, waarna uit de suspensie op platen van gelijke samenstelling werd afgestreken. Indien de bacteriën uit de bladvlekken moesten worden geïsoleerd, geschiedde dit het eenvoudigst door het blad even in 96%-ige alcohol onder te dompelen en daarna de aangetaste delen „ruim" uit te snijden en in stukjes te verdelen. De stukjes werden terstond op platen peptonagar-5% saccharose uitgestrooid of wel in steriel water gesuspendeerd, waarna uit deze suspensie werd afgestreken op platen van dezelfde samenstelling.

Er werd altijd gecultiveerd bij ca 23° C.

Na enkele dagen werden bij dergelijke isolaties op het bovengenoemde voedingsmedium vrij snel groeiende kolonies van bacteriën aangetroffen, die zich door hun slijmig uiterlijk en fijne radiaire structuur op deze voedingsbodem zeer gemakkelijk lieten herkennen. Deze kolonies waren in de meeste gevallen in de meerderheid; daarnaast traden ook kolonies van niet-slijmvormende bacteriën en schimmels op. Omdat van de verwekkers van bacteriekanker bekend is, dat zij op saccharose bevattende peptonagar slijmvormende kolonies vormen, door een radiaire structuur gekenmerkt, werden slechts dergelijke kolonies in reincultuur gebracht. Het reinkweken geschiedde op de gebruikelijke wijze; reincultures werden op peptonagar-2% glycerine of peptonagar aangehouden.

De geïsoleerde stammen

Uit kerse-, perzik- en pruimebomen werden vele bacteriestammen geïsoleerd, die aan het bovengestelde criterium van slijmvorming en het bezit van een radiaire structuur bij cultivering op peptonagar-5% saccharose voldeden. Niet alle stammen zijn echter pathogeen gebleken; van diegene, die bij inoculatie in bladeren van één of meer der volgende rassen: (kers) Franse Wijnkers, Varikse Zwarte; (perzik) Wassenberger en (pruim) Ontario laesies bleken te veroorzaken, werd een 10-tal nader onderzocht. Isoleringsdatum en herkomst van deze stammen zijn de volgende:

Nr.	datum	herkomst
1	30-5-'53	eenjarige scheut pruim (Ontario) (Wageningen)
2	9-6-'53	bladschijf kers (ras onbekend) (Bemmel)
3	10-7-'53	bladschijf kers (ras onbekend) (Bemmel)
4	2-6-'54	takkanker pruim (Ontario) (Wageningen)
5	14-6-'54	takkanker pruim (Ontario) (Wageningen)
6	14-6-'54	takkanker pruim (Ontario) (Wageningen)
9	6-7-'54	bladschijf kerse-onderstam (ras onbekend) (Opheusden)
11	21-7-'54	bladschijf pruim (Ontario) (Kerkdriel)
12	21-7-'54	bladsteel pruim (Ontario) (Kerkdriel)
14	10-8-'54	bladschijf perzik (Wassenberger) (Wageningen)

Daarnaast werden nog stammen geïsoleerd uit bladeren en tak- en stamkan-

[1]) Niet op te vatten in plantenanatomische zin.

kers van verschillende kersebomen (Early Rivers, e.a.; Malden, Wageningen); hiertoe behoort een stam op 10 Augustus '54 geïsoleerd uit een takkanker van een kers (Early Rivers (?); Wageningen).

De determinatiekenmerken der onderzochte stammen

Van de 10 bovengenoemde stammen werd nu vervolgens nagegaan in hoeverre hun kenmerken overeenkomen met de voor het geslacht *Pseudomonas* en de daartoe behorende soorten *Pseudomonas mors-prunorum* en *Pseudomonas syringae* in Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (6th ed., 1948) genoemde eigenschappen.

Alle stammen zijn beweeglijk, niet sporevormend, staafvormig, obligaat aëroob met polaire ciliën.

Ze vormen alle onder bepaalde omstandigheden een groen fluorescerend pigment, hoewel de verscheidenheid hierin onder de verschillende stammen zeer groot is.

De stammen 2, 3, 5, 6, 9 en 14 vervloeien gelatine wèl, de andere nièt in steekcultuur bij 18°C. Volgens Bergey vervloeit zowel *Pseudomonas mors-prunorum* als *Pseudomonas syringae* gelatine; ook Wormald signaleert echter een verscheidenheid in deze eigenschap.

De kolonies op pepton- en bouillonagarmedia zijn wit tot beigewit, glanzend, glad en rond.

In bouillon-5% saccharose is de groei sterk en geeft tot een dichte, witte troebeling aanleiding.

Geen der stammen vormt binnen 14 dagen nitriet in bouillon-0,1% KNO_3.

Alle stammen produceren (soms zwak) zuur in peptonwater-1% fructose, glucose en saccharose; gasvorming treedt niet op bij anaërobe cultivering in media met fructose, glucose, glycerine, inuline, lactose, mannitol, raffinose en saccharose. In dit verband werd nog nagegaan, welke pH-veranderingen in bouillon (Difco nutrient broth)-media met resp. 1% glucose, 1% glycerine, 1% lactose en 1 en 5% saccharose in 4 dagen optreden; ter vergelijking werd eveneens in bouillonmedia zonder toevoeging van suikers geënt. In tabel I zijn de resultaten van een aantal isolaties weergegeven. Het is duidelijk, dat in media met glucose en saccharose een aanzienlijke verlaging der pH optreedt, terwijl glycerine en lactose onder dezelfde omstandigheden – althans aanvankelijk – geen pH-verlaging bewerkstelligen.

Tabel I. pH-veranderingen in een aantal Difco-bouillonmedia, opgetreden binnen 4 dagen na enting; het eerste getal duidt de pH van het niet geënte medium aan

Table I. *pH-changes in different Difco nutrient broth media, within 4 days after inoculation; the first number indicates the pH at the beginning.*

Cultuurmedium (*Culture medium*)	Bacteriestammen (*Bacterial strains*)				
	2	5	9	12	14
bouillon	6,5–7,8	6,5–8,0	6,5–7,8	6,5–8,0	6,5–8,0
bouillon-1% glucose	6,7–4,6	6,7–3,9	6,5–4,1	6,5–3,9	6,5–4,9
bouillon-1% glycerine	6,9–7,9	6,9–7,3	6,5–7,4	6,5–6,8	6,5–7,0
bouillon-1% lactose	6,8–8,0	6,8–8,4	6,4–8,1	6,4–7,9	6,4–8,0
bouillon-1% saccharose	6,9–4,5	6,9–5,5	6,5–4,2	6,5–6,6	6,5–5,5
bouillon-5% saccharose	6,8–4,7	6,8–3,9	6,4–4,2	6,4–3,9	6,4–5,5

Geen der stammen hydrolyseert zetmeel (bouillonagar-0,2 % zetmeel).

Uit de verkregen gegevens kan worden geconcludeerd, dat de verschillende stammen wel is waar ten aanzien van een aantal kenmerken een zekere verscheidenheid vertonen (zie p. 51), doch alle zonder bezwaar tot één der beide soorten *Pseudomonas mors-prunorum* en *Pseudomonas syringae* kunnen worden gerekend.

Omdat door een aantal auteurs (WORMALD, 1932, 1938; CROSSE, 1953) aan de verschillen tussen deze soorten veel waarde wordt gehecht, is naar de onderscheidende kenmerken een nader onderzoek ingesteld. Gemakshalve is daarom de tabel, waarin WORMALD (1932) de verschillende eigenschappen van deze beide bacteriën samenvat, hier gereproduceerd en aangevuld met gegevens van DOWSON (1949) en CROSSE (1953) (Tabel II).

TABEL II. Kenmerken, waarin *Pseudomonas mors-prunorum* en *Pseudomonas syringae* van elkaar verschillen [1])

TABLE II. *Characteristics in which Pseudomonas mors-prunorum and Pseudomonas syringae differ from each other* (see WORMALD, 1932 and CROSSE, 1953)

Bacteriesoort Cultuurmedium	*Pseudomonas mors-prunorum*	*Pseudomonas syringae*
Difco nutrient broth + 5 % saccharose	wit, troebel	geelachtig, meer doorschijnend
Difco nutrient agar + 5 % saccharose	snelle zuurproductie; bacteriën binnen 4–6 dagen afstervend	langzame zuurproductie; bacteriën blijven verscheidene weken in leven
Difco nutrient agar + 2 % lactose + BCP [2])	eerst alkalisch (paars), later zuur wordend, waarbij kleuromslag naar geel optreedt	alkalisch blijvend, dus geen kleuromslag naar geel
Uschinsky's medium [3])	indien groei optreedt, geen of zeer zwak gele kleur	duidelijk gele kleur
Mineraal medium + 1% lactose en idem + 1% maltose [4])	pH-verlaging in lactose > maltose	pH-verlaging in lactose < maltose

[1]) DOWSON (1949) geeft in tegenstelling tot andere auteurs aan, dat zetmeel door *Pseudomonas mors-prunorum* niet, door *Pseudomonas syringae* daarentegen wel wordt gehydrolyseerd.

[2]) BCP = broomcresolpurper; gebruikt wordt 1 ml van een 1,6 % alcoholische oplossing per liter medium.

[3]) De door WORMALD gebruikte samenstelling van dit medium wordt door hem niet vermeld.

[4]) De pH-verlaging betreft die, binnen 28 dagen optredend in een medium van de volgende samenstelling (DOWSON, 1949):

$(NH_4)H_2PO_4$	0,1 %	
KCl	0,02 %	pH 7,0 (door toevoeging van 1 N Na_2CO_3)
$MgSO_4 7H_2O$	0,02 %	

in aqua dest.
Hieraan wordt resp. 1% lactose en 1% maltose toegevoegd (CROSSE, 1953).

Ten behoeve van deze nadere identificatie werden alle onderzochte stammen daarom geënt op Difco nutrient agar + 2 % lactose + broomcresolpurper. Alle stammen, behalve 14, brachten hierin binnen 7 dagen – stam 5 na iets langer tijd – een kleuromslag naar geel teweeg. Op grond hiervan en op grond van het feit, dat de genoemde stammen, behalve 14, in bouillon-5 % saccharose een snelle zuurproductie veroorzaken, zou men tot de conclusie kunnen komen, dat alle stammen met uitzondering van stam 14 tot *Pseudomonas mors-prunorum* behoren; laatstgenoemde zou dan tot *Pseudomonas syringae* moeten worden

gerekend. Dat zou betekenen, dat *Pseudomonas mors-prunorum* behalve in Engeland, ook in Nederland uit door bacteriekanker aangetaste *Prunus*-soorten kan worden geïsoleerd[1]).

Het feit evenwel, dat alle stammen ook na een week nog levenskrachtig waren op 5% saccharose bevattende peptonagarmedia maakte deze conclusie minder zeker, hoewel moet worden opgemerkt, dat reeds ERIKSON (1945) constateerde, dat de vitaliteit van *Pseudomonas mors-prunorum* op saccharose bevattende peptonagarmedia sterk afhankelijk is van de verdere samenstelling van de voedingsbodem: alleen „nutrient heart broth agar" + 5% saccharose had snel afsterven der bacteriën ten gevolge (na 8–12 dagen); op B.D.H. peptonagar + 5% saccharose waren zowel *Pseudomonas mors-prunorum* als *Pseudomonas syringae* na 20–30 dagen nog levenskrachtig.

Na een jaar werden alle stammen – na een aantal overentingen op peptonagar-2% glycerine of peptonagar – nog eens met elkaar vergeleken.

In Dowson's mineraal medium + 1% lactose en 1% maltose werd in alle gevallen een – meestal zeer geringe – pH-verlaging geconstateerd; alle stammen, behalve 5 en 6, brachten in lactose een iets sterkere pH-verlaging teweeg dan in maltose. De pH-veranderingen, door de stammen 5 en 6 veroorzaakt, waren onderstaande:

	lactose	maltose
stam 5	7,2 → 6,8 a); 7,1 → 6,6 b)	7,1 → 6,1 a); 7,0 → 6,1 b)
stam 6	7,2 → 6,8 a); 7,1 → 6,4 b)	7,1 → 5,5 a); 7,0 → 5,4 b)

a) na 28 dagen; b) na 30 dagen

In Uschinsky's medium, waarvan de gebruikte samenstelling in zoverre van die gegeven door DUNEGAN (1932) afweek, dat in plaats van Na-asparaginaat een gelijke hoeveelheid asparagine gebruikt werd, bleken alle stammen te groeien onder vorming van een lichtgroen fluorescerend pigment. De pH steeg in 14 dagen tot 8,1–8,4.

Bij enting op Difco nutrient agar + 2% lactose + broomcresolpurper werd nu nog slechts door de stammen 1, 2, 3 en 4 een kleuromslag naar geel teweeggebracht (op 1% lactose trad geen kleurverandering op). Daarom werd nagegaan of en in hoeverre wel op hogere percentages lactose (tot 5%) kleuromslag binnen de tijdsduur van het experiment – 28 dagen – optrad; het resultaat is in Tabel III vermeld.

Hieruit blijkt, dat alle stammen op 4 en 5% lactose nog wèl, doch op lagere percentages nièt meer alle een geelkleuring veroorzaken, zoals eerder werd vastgesteld; geen der stammen geeft een kleuromslag op 1% lactose.

Bij enting op Difco nutrient agar + 5% saccharose bleken de stammen 1, 2, 3 en 4 nog niet na een week, doch wel na 14 dagen hun vitaliteit te hebben verloren. De andere stammen waren echter toen nog levenskrachtig.

[1]) Waarschijnlijk ten gevolge van een onjuiste weergave van literatuurgegevens door DOWSON (1949) geeft ook CROSSE (1954) aan, dat *Pseudomonas mors-prunorum* eveneens in Zweden en Australië voorkomt; in beide gevallen (BJÖRLING & NILLSON, 1945; MILLTHORPE & VINCENT, 1946) is hier, zoals ook in de Verenigde Staten (WILSON, 1933) en Nieuw-Zeeland (DYE, 1954) van *Pseudomonas syringae* (*Ps. cerasi* var. *prunicola*, *Ps. prunicola*) sprake.

Tabel III. Aantal dagen, waarna een kleuromslag naar geel is opgetreden, bij cultivering der stammen 1–14 op Difco nutrient agar met stijgende lactose-concentraties en broomcresolpurper als indicator

Table III. *Number of days after which a colour change to yellow was shown, on cultivation of 10 strains of the bacterial canker organism on Difco nutrient agar with increasing lactose concentrations and bromcresol purple as an indicator*

Stammen (*Strains*)	1	2	3	4	5	6	9	11	12	14
1% lactose	–	–	–	.	.	–	–	–	–	–
2% lactose	6	2	2	8	–	–	–	–	–	–
3% lactose	4	2	2	2	–	6	12	–	6	6
4% lactose	2	2	2	4	4	4	4	6	2	4
5% lactose	2	2	2	2	4	2	2	4	2	4

De kenmerken, op grond waarvan *Pseudomonas mors-prunorum* en *Pseudomonas syringae* worden onderscheiden, blijken dus bij lang aanhouden der stammen niet altijd constant te zijn; terwijl bijv. de stammen 5 en 6 op grond van de eerst verkregen gegevens tot *Pseudomonas mors-prunorum* zouden moeten worden gerekend, wijzen de laatste resultaten er op, dat deze stammen tot de soort *Pseudomonas syringae* behoren. Er kan aan dit soortsonderscheid dan ook geen betekenis worden gehecht.

Enkele andere kenmerken der onderzochte stammen

Op saccharose bevattende agarmedia vertonen de kolonies van alle stammen een zeer duidelijke radiaire structuur, terwijl ze bovendien in staat zijn tot vorming van belangrijke hoeveelheden „bacterieslijm" op deze media. Dit slijm is een laevulan, een polymerisatieproduct van fructofuranose (Cooper & Preston, 1935; Erikson, 1945; Gilbert & Stacey, 1948; Bell & Dedonder, 1954). Deze laevulanen worden alleen gevormd uit die di-, tri- en tetrasacchariden, die een eindstandige fructofuranose-groep bezitten (saccharose, raffinose, stachyose, e.d.).

Bij cultivering van de onderzochte stammen op peptonagar met andere suikers dan saccharose, en wel met 5% arabinose, fructose, galactose, lactose en maltose trad dan ook geen slijmvorming op. Hierbij deed zich overigens het verrassende feit voor, dat alleen de beide disacchariden (lactose en maltose) in alle gevallen een duidelijke groei verzekerden; op de arabinose en fructose bevattende media vertoonde geen der stammen enige groei, terwijl op galactose alleen de stammen 2, 4, 5, 6 en 14 geringe groei te zien gaven; op glucose groeiden alle stammen, behalve 1 en 11. Omdat de groei op peptonagar zonder toevoeging van suikers in alle gevallen zeer goed was, moet aan de hoge percentages arabinose en fructose – en in een aantal gevallen ook aan galactose en glucose – klaarblijkelijk een groeiremmende invloed worden toegeschreven; in laag percentage gegeven (1%) kunnen alle genoemde suikers daarentegen zelfs als enige C-bron worden toegediend (Erikson, 1945). Een overeenkomstig verschijnsel werd door Cooper & Preston (1935) geconstateerd; zo oefenen $7\frac{1}{2}$% arabinose, mannose en in mindere mate ook galactose een groeiremmende invloed op een aantal laevulanvormende bacteriën uit. In ons geval is intussen gebleken, dat in geschudde vloeistofcultures een snelle aanpassing aan deze hogere suikerconcentraties optreedt.

Gebleken is, dat geen van deze andere suikers een radiaire structuur der kolonies teweegbrengt en dat de bacteriën op elk der met deze suikers bereide media gedurende lange tijd levenskrachtig zijn, uiteraard waar van enige groei sprake is.

Wat de oorzaken der spoedige sterfte op saccharose betreft, zijn vooral door ERIKSON (1945) enkele hypothesen geuit. De zuurvorming is vermoedelijk niet de verantwoordelijke factor, want ook op glucose, dat niet tot een vroeg afsterven aanleiding geeft, treedt – zoals wij boven zagen een vaak nog sterkere – zuurvorming op. Ook de laevulanvorming acht ERIKSON niet de oorzaak van dit feit; raffinose leidt niet tot een zo vroegtijdig afsterven der bacteriën. Bovendien bleek in ons onderzoek een mineraal medium met saccharose wel tot laevulanvorming, doch niet tot de snelle dood van elk der onderzochte stammen aanleiding te geven. ERIKSON besluit met te zeggen, dat de verminderde vitaliteit waarschijnlijk een gevolg is van de bijproducten in het meer complexe „nutrient heart broth" medium.

DE VERSCHEIDENHEID DER ONDERZOCHTE STAMMEN

Duidelijk is hierboven de grote verscheidenheid tussen de door ons geïsoleerde stammen gebleken. Wij resumeren een aantal bijzonderheden ten dien aanzien en laten nog enkele andere volgen.

1. Er zijn – zoals hierboven reeds werd opgemerkt – vrij grote verschillen in groei op 5% galactose en glucose bevattende peptonagarplaten.
2. Zeer groot zijn verder de verschillen in de vorming van een geelachtig groen, soms sterk fluorescerend pigment in vele vaste en vloeibare media. Terwijl het in sommige geheel achterwege blijft, kan de vorming ervan in een ander medium zeer evident zijn. Doch niet alleen ten aanzien van de verschillende media, ook onderling tonen de tien stammen hierin een grote verscheidenheid. Het meest treedt de pigmentvorming daarbij in synthetische media op, doch kan ook hierin achterwege blijven.
3. De grote verscheidenheid in het vermogen tot gelatinevervloeiing werd ook door WORMALD (1932) gesignaleerd.
4. Ook ten aanzien van de zuurvorming in verschillende media tonen de diverse stammen grote onderlinge verschillen. In suikerhoudende bouillonmedia variëren de optredende pH-veranderingen sterk, zoals uit Tabel II blijkt. Dit geldt in het bijzonder voor bouillon-1% saccharose: in tegenstelling tot de stammen 5, 6, 11, 12 en 14 laten de andere een snelle zuurvorming zien. In 5% saccharose treedt bij alle stammen – met uitzondering van stam 14 – een snelle pH-daling op. Stam 5 en 6 onderscheiden zich van de andere door sterkere zuurvorming in maltose- dan in lactose-bevattende media.
5. Opvallend is het feit, dat laatstgenoemde stammen zich bovendien onderscheiden door de vorming van een zeer sterk huidje in bouillon-1% glycerine.

Niet alleen ten aanzien van de kenmerken, waarin *Pseudomonas mors-prunorum* en *Pseudomonas syringae* zich volgens WORMALD onderscheiden, doch ook in andere blijkt er dus een grote verscheidenheid te bestaan. Het lijkt bij een dergelijke verscheidenheid in eigenschappen tussen de verschillende stammen niet verantwoord aan de verschillen, die er tussen *Pseudomonas mors-prunorum* en

Pseudomonas syringae in de differentiërende kenmerken bestaan, grote betekenis toe te kennen, te meer niet, omdat ook deze verschillen in genen dele een constant karakter dragen.

Inoculatieproeven en herisolaties

Om de pathogeniteit der verschillende stammen en de door deze veroorzaakte ziektesymptomen te onderzoeken, en tevens om de gevoeligheid van een aantal kerse-, perzik- en pruimerassen na te gaan, werden een groot aantal inoculatieproeven verricht. Daartoe werden de bacteriën, na 3 dagen groei op peptonagar-5 % saccharose, met een entnaald op de boven- en onderzijde van bladeren gebracht, en wel op 20 plaatsen, in 4 rijen van 5 ter weerszijden van de middennerf gelegen. In sommige gevallen werd de bladschijf van te voren op deze plaatsen aangeprikt; in andere gevallen werd zonder voorafgaand prikken geënt. Alle hier besproken inoculaties hadden in de boomgaard plaats; de behandelde bladeren werden niet op een of andere wijze ingehuld. Na 13 dagen werd elke proef als geëindigd beschouwd.

Reeds na enkele dagen ontstonden bruine, soms (perzik) enigszins paarsbruine, laesies, bij het pruimeras Ontario door een lichtgroene zone omgeven; enige dagen na het verschijnen van de laesies kunnen de bruingeworden plekjes uitvallen, zodat hagelschot ontstaat (vooral bij perzik).

Gebleken is, dat Ontario een gevoeliger ras in dan Reine Claude d'Oullins; de gekozen kerse- (Franse Wijnkers, Varikse Zwarte) en perzikrassen (Wassenberger, op eigen wortel en onderstam Gele Kroosjespruim) zijn alle zeer gevoelig.

Indien de bladeren van te voren zijn aangeprikt, geven zowel de inoculaties aan de boven- als aan de onderzijde van de bladschijf tot laesies aanleiding, hoewel de laatste gewoonlijk uitgebreider zijn; niet aangeprikte bladeren vertonen alleen laesies, indien aan de onderzijde wordt geënt. Dit houdt verband met de aanwezigheid der stomata aan de onderzijde van het blad; door deze stomata immers dringen de bacteriën in de bladschijf door (Crosse, 1954, 1955, 1956; Fuchs et al., 1957). Deze inoculaties leverden tot laat in het seizoen een positief resultaat; zo konden bladeren van kers, perzik en pruim nog eind Augustus met succes worden geïnoculeerd. Isolaties uit kers, perzik en pruim bleken in al deze steenvruchten laesies te veroorzaken.

In alle gevallen, waarin getracht werd de bacterie uit geïnoculeerde bladeren te herisoleren, zijn de pogingen daartoe geslaagd. Meestal waren daarbij de kolonies met een duidelijk radiaire structuur in de meerderheid, hoewel ook andere bacteriën en schimmels veelvuldig voorkwamen.

Alle 10 stammen gedroegen zich, wat hun pathogeniteit en het opgetreden ziektebeeld betreft, volkomen gelijk, zodat de onderzochte stammen niet alleen morphologisch en physiologisch, doch ook phytopathologische identiek geacht kunnen worden.

De verwantschap van Pseudomonas syringae met andere bacteriesoorten

Evenals *Pseudomonas mors-prunorum* vertoont een groot aantal onder zeer uiteenlopende namen beschreven bacteriën (*Bacterium matthiolae* Briosi & Pavarino (1912), *Bacterium citriputeale* Smith (1913), *Bacterium citrarefaciens*

Lee (1917), *Bacterium nectarophila* Doidge (1917), *Bacterium hibisci* Nakata & Takimoto (1923), *Bacterium trifoliorum* Jones et al. (1923), *Bacterium vignae* Gardner & Kendrick (1923), *Pseudomonas viridifaciens* Tisdale & Williamson (1923), *Bacillus barkeri* Berridge (1924), *Bacterium holci* Kendrick (1926), *Pseudomonas utiformica* Clara (1932) en *Pseudomonas rimaefaciens* Koning (1938)) een grote verwantschap met *Pseudomonas syringae*, of is daarmee wellicht zelfs identiek (Bryan, 1928; Smith & Fawcett, 1930; Rosen & Bleecker, 1933; Clara, 1934; Wilson, 1936; Burkholder, 1938; Smith, 1943). Al deze bacteriën tasten een groot aantal hogere planten aan, hoewel een aantal ervan een zekere „specialisatie" vertoont.

Uit een onderzoek van Krythe (mond. med.) is gebleken, dat bacteriën, geïsoleerd uit door bacteriekanker aangetaste *Prunus*-soorten, ook met succes konden worden geïnoculeerd in stengels van balsemien, peulen en zaadlobben van bruine boon, vruchten van citroen, zaadlobben van lupine, vruchten van peer, bladeren van rode klaver en bladeren van sering. Negatief of zeer zwak positief was het resultaat van inoculaties in boekweit, erwt, mais, melde, roos, tomaat, tuinboon, *Vigna sinensis* en violier.

Het lijkt verantwoord aan alle hier genoemde soorten de naam te geven van de voor het eerst door Beijerinck geïsoleerde, doch door van Hall (1902) beschreven soort *Pseudomonas syringae*.

De isolatie van Aerobacter levanicum Hestrin et al

Naast de bovengenoemde, voor *Prunus* spp. pathogene bacteriën, werd een viertal malen een niet-pathogeen gebleken bacterie geïsoleerd, waarvan de kolonies in morphologisch opzicht sterk aan die van *Pseudomonas syringae* doen denken. Ook hier worden op saccharose bevattende agarplaten slijmige kolonies gevormd, die eveneens door een radiaire structuur zijn gekenmerkt.

Drie stammen werden uit sterk gommende kankers van door bacteriekanker aangetaste bomen geïsoleerd en wel (7) uit een takkanker van een perzik (onbekend ras; Wageningen), (8) uit de gom, door deze kanker geproduceerd en (10) uit een zeer ernstige okselkanker in een kers (Early Rivers; Malden). Een vierde stam (16) werd geïsoleerd uit een twijg van een perzik (Wassenberger; Wageningen), geïnoculeerd met stam 9.

Alle stammen zijn beweeglijk, niet sporevormend, staafvormig, facultatief aëroob met peritriche ciliën.

Twee der stammen (7 en 8) vervloeien gelatine niet of soms zeer zwak de beide andere (10 en 16) niet; alle reduceren nitraat tot nitriet zowel in bouillon-0,1% KNO_3 als in nitraat als enige N-bron bevattende media. Ze vormen zuur en gas in peptonwater-1% fructose, glucose, lactose, mannitol, raffinose en saccharose; in glycerine en inuline wordt slechts zwak zuur gevormd; stam 10 wijkt hier echter af in zijn vermogen tot vorming van zuur en gas in glycerine. De schijnbare verhouding H_2/CO_2 bij vergisting van glucose is <1, de Voges-Proskauer-reactie is positief, de methylroodtest is negatief of zwak positief (stam 7). Zetmeel wordt niet gehydrolyseerd; groei treedt op in het urinezuur- en het citraatmedium van Koser.

Op grond van bovengenoemde kenmerken konden alle stammen worden geïdentificeerd met de, voorzover ons bekend, tot nu toe slechts eenmaal, door Hestrin et al. (1943) uit een vruchtboom, geïsoleerde en door hen beschreven *Aerobacter levanicum*.

Deze laevulanvormende bacterie kon met grote regelmaat uit tuingrond, slootwater, e.d. worden geïsoleerd in ophopingscultures met 1% kersegom en 0,1% NH_4Cl, 0,1% K_2HPO_4 en 0,05% $MgSO_4 7H_2O$ (pH ca 7,2). Na enige overentingen in hetzelfde medium en na afstrijken op peptonagar-5% saccharose konden vele stammen worden geïsoleerd, waarvan de kolonies zich op het laatstgenoemde medium onderscheidden, doordat zij slijmig en halfbolvormig waren en een radiaire structuur bezaten. Alle stammen bleken tot de soort *Aerobacter levanicum* te behoren. Geen van deze stammen bleek intussen in staat in reincultuur in het kersegommedium te groeien.

Naast deze laevulanvormende bacteriën werd een enkele maal uit een sterk gommende tak van een Victoria-pruimeboom een stam geïsoleerd van de dextranvormende bacterie *Leuconostoc mesenteroides* (syn. *Betacoccus arabinosaceus*); ook van deze stam bleken de kolonies slijmig en door een zeer fijne radiaire structuur gekenmerkt.

Uit door bacteriekanker aangetaste plantendelen kunnen dus tot geheel verschillende soorten behorende stammen worden geïsoleerd, die in morphologisch uiterlijk grote gelijkenis vertonen. Vooral bij herisolaties zal het dus immer noodzakelijk zijn ook andere – physiologische – kenmerken bij de determinatie te beschouwen. Dit is daarom zo belangrijk, daar kon worden vastgesteld, dat alle laevulanvormende *Aerobacter* en *Pseudomonas*-soorten (tot het laatste geslacht behoort een groot aantal phytopathogene organismen!) door een dergelijk uiterlijk zijn gekenmerkt, waarbij vooral de radiaire structuur der kolonies opvalt (Fuchs, 1956).

Samenvatting

Op grond van een onderzoek van een tiental door ons geïsoleerde bacteriestammen uit door bacteriekanker aangetaste kerse-, perzik- en pruimebomen kon worden vastgesteld, dat de in Tabel II samengevatte kenmerken, waarin *Pseudomonas mors-prunorum* Wormald en *Pseudomonas syringae* van Hall geacht worden te verschillen, bij aanhouden op peptonagar-2% glycerine of peptonagar allerminst constant zijn. Bij inoculatie in kerse-, perzik- en pruimebladeren toonden de stammen geen enkel verschil. Aan het soortsonderscheid kan dan ook geen betekenis worden gehecht.

Bij inoculatieproeven bleken de bacteriekanker veroorzakende organismen naast *Prunus*-soorten talrijke andere planten te kunnen infecteren. Evenals *Pseudomonas mors-prunorum* kan een groot aantal andere, evenzo weinig specifieke, phytopathogene bacteriën identiek geacht worden met *Pseudomonas syringae*.

Naast deze pathogene bacterie werd in het bijzonder uit gommende kankers een niet-pathogene bacterie geïsoleerd, die identiek is gebleken met *Aerobacter levanicum* Hestrin et al. De kolonies van deze bacterie blijken op saccharose bevattende agarmedia in morphologisch opzicht zeer sterk met de bacteriekanker veroorzakende organismen overeen te stemmen.

Het is, vooral ook bij herisolaties, niet voldoende gebleken de bacteriën naar het uiterlijk der kolonies te determineren.

Summary

A number of bacterial strains were isolated from cherry, peach and plum

trees attacked by bacterial canker. The two species, *Pseudomonas mors-prunorum* WORMALD and *Pseudomonas syringae* VAN HALL, could not consistently be distinguished by cultural characteristics. All but one of these strains at first might have been identified as *Pseudomonas mors-prunorum*. However, after a number of serial transfers on peptone agar or peptone agar plus 2% glycerine it was impossible to separate them from *Pseudomonas syringae* by some differentiating characters presented by WORMALD (1932) and CROSSE (1953). Thus, these characters such as longevity on sucrose-containing agar media, colour change on Difco nutrient agar plus 2% lactose and bromcresol purple (see Table III), fluorescent green pigment production, and pH change in a basic mineral medium plus lactose and the same basic medium plus maltose varied in a completely inconstant manner.

Not only in these differentiating characteristics but also in others the isolated strains showed a great diversity.

Thus, no great reliability may be placed on such inconstant characters, in which according to WORMALD, the two species differ.

After being inoculated into the leaves of cherry, peach and plum trees all strains caused identical symptoms.

Therefore, it is impossible to separate the two species after prolonged cultivation on peptone agar media either by biochemical or by pathogenic characteristics.

The bacterial canker organism could be inoculated successfully in many plants unrelated to *Prunus* spp.; e.g. balsamine, bean, lemon, lilac, lupine, pear and red clover. Thus, the bacterial canker organism proved to be rather unspecific in its ability to infect higher plants. In these respects too it shows a certain relationship with many other bacteria, now generally included in the species *Pseudomonas syringae* (BERGEY, 6th ed., 1948). From data in the literature it can be concluded, that the species *Pseudomonas matthiolae*, *Pseudomonas nectarophila*, *Pseudomonas barkeri* and *Pseudomonas rimaefaciens* can also be grouped in this species. Therefore, it seems warranted to apply the name of *Pseudomonas syringae* to all these bacteria, including *Pseudomonas mors-prunorum*.

In addition to this pathogenic bacterium another one has been isolated which could be identified as *Aerobacter levanicum* HESTRIN et al.; this bacterium which is a common saprophyte, found on cherry and plum gum, has some morphological characteristics very similar to those shown by the bacterial canker organism: both organisms, if grown on sucrose-containing agar media, are characterized by slimy, hemispherical colonies with a distinct radial structure. It was possible to enrich for *Aerobacter levanicum* in a medium containing 1% cherry gum and small amounts of inorganic salts from soil, ditch water, etc. After enrichment on the cherry gum medium, the organisms were isolated on peptone agar + 5% sucrose. It is noteworthy that although the cherry gum medium was good for enrichment, it did not support the growth of any of the strains thus isolated in pure culture.

Morphological characters of the colonies such as radial structure and slime production proved to be insufficient for determination of the isolated bacterial strains.

Gaarne zij hier dank betuigd aan Prof. Dr. A. J. P. OORT en Dr. M. H. VAN

RAALTE voor de belangstelling door hen getoond tijdens dit onderzoek, dat grotendeels werd verricht op het Laboratorium voor Phytopathologie te Wageningen. Ook Mej. Dra. J. M. KRYTHE heeft door vele adviezen dit onderzoek gesteund; bovendien stond zij een aantal gegevens ter publikatie af.

Tenslotte mag niet onvermeld blijven, dat het gehele onderzoek met een aantal resultaten werd aangevuld en afgerond op het Laboratorium voor Microbiologie te Delft. Naar wijlen Prof. Dr. A. J. KLUYVER gaat voor de door hem getoonde belangstelling mijn oprechte dank uit.

LITERATUUR

BARSS, H. P., – 1918. Bacterial gummosis of stone fruits. Mon. Bull. Calif. Comm. Hort. 7: 121–135.

BELL, D. J. & R. DEDONDER, – 1954. Structural re-examination of the levans formed by Pseudomonas prunicola, Wormald, and Bacillus subtilis, BG2 F1. J. Chem. Soc.: 2866–2870.

BERRIDGE, E. M., – 1924. The influence of hydrogen-ion concentration on the growth of certain bacterial plant parasites and saprophytes. Ann. App. Biol. 11: 73–85.

BJÖRLING, K. & L. NILLSON, – 1945. Bakteriell hagelskottsjuka pa plommon. Växtskyddsnotiser, Växtskyddsanst., Stockholm, 1945: 81–84 (Abstr. Rev. App. Mycol. 25: 564–565 1946)).

BRIOSI, G. & L. PAVARINO, – 1912. Una malattia batterica della „Matthiola annua L." (Bacterium Matthiolae n. sp.). Atti della Reale Accad. dei Lincei Rend. 21: 216–220.

BRYAN, M. K., – 1928. Lilac blight in the United States. J. agric. Res. 36: 225–235.

BURKHOLDER, W. H., – 1938. A bacterial blight of stocks caused by Phytomonas syringae. Phytopath. 28: 935–936.

CLARA, F. M., – 1932. A new bacterial disease of pears. Science 75: 111.

CLARA, F. M., – 1934. A comparative study of the green-fluorescent bacterial plant pathogens. Cornell Univ. Agric. Exp. Sta. Mem. 159: 3–36.

COOPER, E. A. & J. F. PRESTON, – 1935. Enzyme formation and polysaccharide synthesis by bacteria. Biochem. J. 29: 2267–2277.

CROSSE, J. E., – 1953. Bacterial diseases of stone-fruit trees in Britain IX Bacteriosis of apricot. Trans. Brit. Mycol. Soc. 36: 38–45.

———, – 1954. Bacterial canker, leaf spot, and shoot wilt of cherry and plum. Ann. Rep. East Mall. Res. Sta., 1953: 202–207.

———, – 1955. Bacterial canker of stone fruits I Field observations on the avenues of autumnal infection of cherry. J. Hort. Sci. 30: 131–142.

———, – 1956. An epidemic leaf spot and spur wilt of cherry caused by Pseudomonas mors-prunorum. Ann. Rep. East Mall. Res. Sta., 1955: 121–125.

DOIDGE, E. M., – 1917. A bacterial blight of pear blossoms occurring in South Africa. Ann. App. Biol. 4: 50–74.

DOWSON, W. J., – 1949. Manual of Bacterial Plant Diseases, London.

DUNEGAN, J. C., – 1932. The bacterial spot disease of the peach and other stone-fruits. U.S. Dept. Agric. Techn. Bull. 273: 1–53.

DYE, D. W., – 1954. Blast of stone-fruit in New Zealand. New Zeal. J. Sci. Techn., Sec. A 35: 451–461.

ERIKSON, D., – 1945. Certain aspects of resistance of plum trees to bacterial canker. Part I Some biochemical characteristics of Pseudomonas mors-prunorum (Wormald) and related phytopathogenic bacteria. Ann. App. Biol. 32: 44–52.

FUCHS, A., – 1956. Levan synthesis by Pseudomonas. Nature 178: 921.

———, J. GROSJEAN, J. M. KRYTHE & TH. W. REIJENGA, – 1957. Bacteriekanker bij steenvruchten I. Symptomen en ziekteverloop bij kers en pruim. T. Pl.ziekten 63: 33–45.

GARDNER, M. W. & J. B. KENDRICK, – 1923. Bacterial spot of cow pea. Science 57: 275.

GILBERT, V. E. & M. STACEY, – 1948. The constitution of a levan produced from sucrose by Pseudomonas mors-prunorum (Wormald), J. Chem. Soc. 1948: 1560–1561.

GRIFFIN, F. L., – 1911. A bacterial gummosis of cherries. Science 34: 615–616.

HALL, C. J. J. VAN, – 1902. Bijdragen tot de kennis der bakteriëele plantenziekten. Proefschrift, Amsterdam.

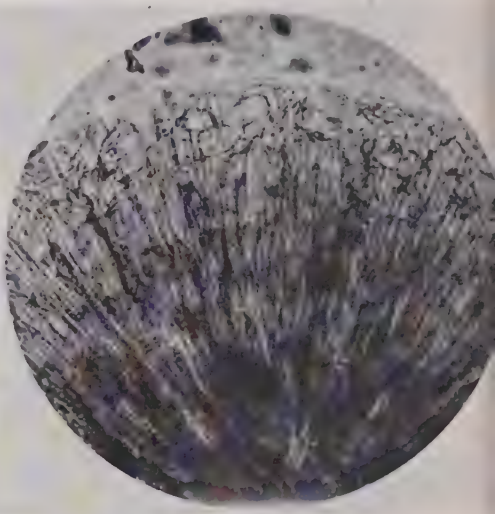
FIG. 1. Laesies, veroorzaakt door kunstmatige inoculaties van een aantal stammen van *Pseudomonas syringae* in kers (Franse Wijnkers, stam 5), perzik (Wassenberger, stam 3) en pruim (Ontario, stam 9); het rechter blad van elk tweetal is niet geïnoculeerd.

Lesions produced after artificial inoculations of some strains of the bacterial canker organism in the leaves of cherry (variety Franse Wijnkers, strain 5), peach (variety Wassenberger, strain 3) and plum (variety Ontario, strain 9); control at right side of each pair.

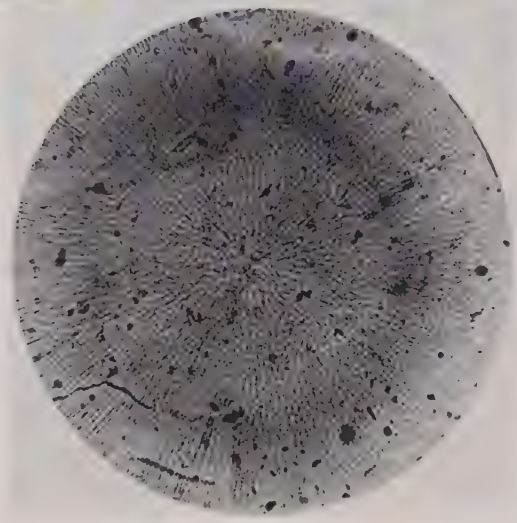
FIG. 2. Kolonies van enige geïsoleerde stammen op peptonagar-5% saccharose; let op de radiaire structuur: a. *Pseudomonas syringae* (stam 9); b. Detail van *Aerobacter levanicum* (stam 8); c. *Leuconostoc mesenteroides*, een dextranvormende bacterie, die kolonies vormt met een zeer fijne radiaire structuur.

Colonies of some isolated strains on peptone agar plus 5% sucrose, showing more or less distinct radial structures: a. bacterial canker organism (strain 9); b. Detail of Aerobacter levanicum (strain 8), note the foamy structure at the margin of the colony; c. Leuconostoc mesenteroides, a dextran forming bacterium isolated from the branch of a Victoria plum tree badly damaged by bacterial canker; note the very fine radial structure in comparison with that in a.).

a



b



c

HESTRIN, S., S. AVINERI-SHAPIRO & M. ASCHNER, – 1943. The enzymic production of levan. Biochem. J. 37: 450–456.
JONES, L. R., M. M. WILLIAMSON, F. A. WOLF & L. MCCULLOCH, – 1923. Bacterial leaf spot of clovers. J. agric. Res. 25: 471–490.
KENDRICK, J. B., – 1926. Holcus bacterial spot on species of Holcus and Zea mays. Phytopath. 16: 236–237.
KONING, H. C., – 1938. The bacterial canker of poplars. Meded. Phytopath. Lab. W. C. Scholten, Baarn 14: 5–42.
LEE, H. A., – 1917. A new bacterial citrus disease. J. agric. Res. 9: 1–8.
MILLTHORPE, F. L. & A. E. VINCENT, – 1946. Bacterial canker of stone fruit. Agric. Gaz. New South Wales 57: 255–257.
NAKATA, K. & K. TAKIMOTO, – 1923. Bacterial blight of Hibiscus. Ann. Phytopath. Soc. Japan 1: 13–19.
ROSEN, H. R. & W. L. BLEECKER, – 1933. Comparative serological and pathological investigations of the fire-blight organism and a pathogenic, fluorescent group of bacteria. J. agric. Res. 46: 95–119.
SMITH, C. O., – 1913. Black pit of lemon. Phytopath. 3: 277–281.
———, – 1943. A leaf-spot of Hibiscus sp. induced by Phytomonas syringae (Phytopath. Notes). Phytopath. 33: 82–84.
——— & H. S. FAWCETT, – 1930. A comparative study of the citrus blast bacterium and some other allied organisms. J. agric. Res. 41: 233–246.
TISDALE, W. B. & M. M. WILLIAMSON, – 1923. Bacterial spot of lima bean. J. agric. Res. 25: 141–153.
WILSON, E. E., – 1933. Bacterial canker of stone-fruit trees in California. Hilgardia 8: 83–123.
———, – 1936. Symptomatic and etiologic relations of the canker and the blossom blast of Pyrus and the bacterial canker of Prunus. Hilgardia 10: 213–240.
———, – 1940. Comparisons of Phytomonas cerasi with Phytomonas syringae (Abstr.). Phytopath. 30: 27.
WORMALD, H., – 1930. Bacterial diseases of stone-fruit trees in Britain II Bacterial shoot wilt of plum trees. Ann. App. Biol. 17: 725–744.
———, – 1932. Bacterial diseases of stone-fruit trees in Britain IV The organism causing bacterial canker of plum trees. Trans. Brit. Mycol. Soc. 17: 157–169.
———, – 1938. Bacterial diseases of stone-fruit trees in Britain VII The organisms causing bacterial diseases in sweet cherries. J. Pomol. Hort. Sci. 16: 280–290.

T. Pl.ziekten 63 (1957): 58–63

DE HEKSENBEZEMZIEKTE BIJ LEGUMINOSEN [1])

With a summary: Witches' broom disease of Leguminosae

DOOR

T. H. THUNG [2]) en TOJIB HADIWIDJAJA
Faculty of Agriculture, Bogor (Java)

INLEIDING

THUNG (1947) vestigde er de aandacht op, dat de heksenbezemziekte in aanplantingen van aardnoot (*Arachis hypogaea*) steeds veelvuldiger voorkomt. Werd de ziekte een twintigtal jaren geleden als een curiositeit beschouwd, thans is een aantasting van 20% van het totale aantal planten geen zeldzaamheid.

SCHWARZ (1927) beschreef de heksenbezemziekte bij *Crotalaria*. Andere rapporten maakten melding van het voorkomen der ziekte bij *Crotalaria juncea* LINN., *C. anagyroides* H.B.K., *C. striata* DC. en *C. usaramoensis* BAK. F. (VAN HALL, 1926; LEEFMANS, 1927, 1929, 1934, TOJIB HADIWIDJAJA, 1952).

Behalve bij de reeds genoemde leguminosen werden ook heksenbezemverschijnselen waargenomen bij de volgende soorten: *Sesbania sericea* DC., *Indigofera suffruticosa* MILL., *Glycine soja* BENTH., *Canavalia ensiformis* DC., *Phaseolus radiatus* LINN., *P. calcaratus* ROXB., *P. lunatus* LINN., *Vigna sinensis* ENDL., *Pachyrrhizus erosus* URBAN. De soorten zijn gerangschikt in volgorde van afnemende aantasting.

ZIEKTEVERSCHIJNSELEN

De meest opvallende ziekteverschijnselen bestaan in het overmatig uitlopen der okselknoppen waardoor bossige takken ontstaan en de plant een bezemachtig uiterlijk krijgt, een atrofie van organen – vooral van het blad – en het optreden van antholyse-verschijnselen. Deze verschijnselen kunnen al naar gelang van de plantesoort en het tijdstip van optreden meer of minder sterk voorkomen.

Bij *Crotalaria usaramoensis* bijvoorbeeld, is heksenbezemvorming vaak dominerend (Fig. 1); daarentegen geeft *C. juncea* overwegend antholyse te zien (Fig. 2). Zaadvorming kan, vooral bij vroeg aangetaste planten, geheel of gedeeltelijk uitblijven. Voorts werd de indruk verkregen, dat heksenbezemzieke Crotalaria-planten een sterker vertakt wortelstelsel bezitten dan gezonde planten.

Bij *Arachis hypogaea* zijn zowel heksenbezem- als antholyse-verschijnselen algemeen. Zeer opmerkelijk is hier voorts een verstoring van de geotropie van de gynoforen en vaak ook van reeds half ontwikkelde peulen, die dan in plaats van een positieve, een negatieve geotropie vertonen (THUNG & TOJIB HADIWIDJAJA, 1951). Zaadvorming blijft ook hier gewoonlijk achterwege. Bij heel laat aangetaste planten vormen zich dikwijls wel zaden, die dan echter niet volledig tot ontwikkeling komen. Het zaad uit deze peulen gaat bij drogen sterk schrompelen en heeft zodoende geen of weinig handelswaarde (z.g. „tjipo").

[1]) Aangenomen voor publikatie 21-2-1957.
[2]) Laboratory of Virology, Wageningen, The Netherlands.

Bij *Sesbania sericea* komt een overmatig uitlopen van de knoppen in de oksels der samengestelde bladeren voor. Als gevolg daarvan ontstaan hele rosetten van heksenbezems (Fig. 3); bovendien kan in de oksels der blaadjes heksenbezemvorming plaats vinden, indien de planten in een laat ontwikkelingsstadium worden aangetast (Fig. 4). Zaadvorming is bij laat aangetaste planten nog wel mogelijk, een groot deel der peulen blijkt echter loos te zijn en eventueel gevormd zaad bezit geen of weinig kiemkracht. Waarnemingen in de proeftuin Muara te Bogor in 1950 wezen uit, dat de ziekte in ernstige mate optrad bij *Sesbania sericea*. Een aangrenzend perceel van *S. punctata* bleef geheel vrij van de ziekte, terwijl een verderop gelegen vak van *S. aculeata* slechts in zeer lichte mate werd aangetast.

Indigofera suffruticosa vertoont ook duidelijke heksenbezemverschijnselen (Fig. 5).

Bij soja (*Glycine soja*) hebben wij te maken met een zeer afwijkend ziekteverschijnsel. Op iedere stengelknoop vindt uitsluitend overmatig uitlopen van dwergvormige „pseudopeulen" plaats (Fig. 7 en 8). De bloemen worden in groot aantal aangelegd (tot 120 per knoop, tegenover normaliter 2 tot 6), maar ze ontwikkelen zich slechts tot kleine, loze peultjes.

Bij de *Phaseolus*-soorten en bij *Vigna sinensis* (Fig. 6) is de buitensporige okselknopontwikkeling het voornaamste ziekteverschijnsel. *P. calcaratus* vertoont minder geprononceerde bloemmisvormingen dan *Crotalaria*. Bij *P. lunatus* komt peulvorming zeer zelden voor; *P. radiatus* vormt weleens peulen als de planten laat besmet zijn geraakt.

Bij *Pachyrrhizus erosus* zijn heksenbezemvorming en atrofie de voornaamste ziekteverschijnselen; de in groot aantal uitgelopen knoppen worden geheel bedekt met miniatuurschubben. De dwergvormige peulen bevatten geen zaad. Heksenbezemziekte komt bij deze plant zelden voor. Het door ons waargenomen geval deed zich voor in 1950 in een zaadaanplant van de Cultuurtuin te Bogor.

Oorzaak van de ziekte

Thung (1947) heeft door middel van topenting bewezen, dat de heksenbezemziekte bij *Arachis* en bij *Vigna* door een virus wordt veroorzaakt. Op dezelfde wijze en door middel van *Cuscuta australis* werd aangetoond, dat ook de heksenbezemziekte bij *Crotalaria* door een virus wordt teweeggebracht (Thung & Tojib Hadiwidjaja, 1950; Tojib Hadiwidjaja, 1952). Zoals uit dit onderzoek zal blijken, kan het heksenbezemvirus bovendien door middel van insecten van *Crotalaria* op *Arachis* en omgekeerd worden overgebracht.

Ook bij *Sesbania* werd door middel van entingen aangetoond, dat de ziekte door een virus wordt veroorzaakt. Bij *Phaseolus*, *Glycine soja*, *Indigofera* en *Pachyrrhizus* is dit nog niet geschied; het enten van zieke delen op gezonde planten lukte hierbij nl. tot dusverre niet.

Wanneer het virus door middel van entingen wordt overgebracht, duurt het gemiddeld 3 tot 4 weken voordat de ziekteverschijnselen zichtbaar worden. Vaak moeten kunstgrepen worden toegepast om de infectie te doen slagen (Tojib Hadiwidjaja, 1952, blz. 3).

In geen der waargenomen gevallen kon het virus met sap worden overgebracht.

Het overbrengen door middel van insecten[1])

Het gelukte Bergman in oriënterende proeven in 1955 om op een enkele Arachis-plant de heksenbezemziekte door middel van *Orosius argentatus* Evans over te brengen. Genoemde cicadellide, die op *Arachis* voorkomt, bleek ook een vector te zijn van een andere, dikwijls bij *Arachis* optredende virusziekte, nl. het mozaiek I van Thung (Bergman, 1956).

Straks zal blijken, dat ook de heksenbezemziekte van *Crotalaria* door genoemd insect kan worden overgebracht. Reciprook kon door dit insect eveneens het virus van *Crotalaria* op *Arachis* worden overgebracht.

Werkwijze

In de infectieproeven werd gebruik gemaakt van een virusvrije kweek van *Orosius argentatus*, die sedert enkele jaren in de collectie was aangehouden. Van deze cicadelliden werden ongeveer 4 dagen oude larven overgebracht op een heksenbezemzieke plant, waarop zij gedurende 10 dagen verbleven. Daarna lieten wij per plant 3 larven gedurende 10 dagen zuigen op ongeveer 2 weken oude potplanten, die tevoren waren ingekooid (reeks I). Vervolgens werden de larven nogmaals overgebracht op een serie andere, ongeveer 2 weken oude potplanten (reeks II); 10 dagen hierna werden de intussen volwassen geworden dieren gedood. In de controles lieten wij de larven op een gezonde plant zuigen. Wij hielden na deze behandeling de planten van de twee reeksen tot ruim 50 dagen na de infectie in een insectenvrije kas; hierna werd de proef beëindigd.

Resultaten

In proef I (zie Tabel 1) slaagden de inoculaties van *Crotalaria juncea* alleen in reeks II. Overbrengen op *Arachis hypogaea* gelukte niet.

In proef II werd het heksenbezemvirus door *Orosius argentatus*, zowel van *Arachis* als van *Crotalaria juncea* af, op *Arachis hypogaea* overgebracht. Het overbrengen gelukte 7 maal in reeks II, doch slechts éénmaal in reeks I.

In proef III werd de heksenbezemziekte door *Orosius argentatus* van *Crotalaria juncea* en *C. usaramoensis* zowel op *Arachis hypogaea* als op *C. juncea* overgebracht. Overbrengen van het virus van *Arachis hypogaea* op *C. juncea* was wel mogelijk; overbrengen van het virus van *Arachis* op *Arachis* gelukte echter niet. Heksenbezemziekte werd één keer in reeks I en twaalf keer in reeks II overgebracht.

Samenvattend kan worden gezegd, dat *Orosius argentatus* in 24 van de 84 gevallen de ziekte heeft overgebracht; hiervan vielen slechts 2 gevallen in reeks I, doch 22 in reeks II. Dit wil dus zeggen, dat na een zuigtijd van 10 dagen op een besmette plant, de besmetting van de toetsplant veel beter slaagt als de cicadelliden in de periode van 10–20 dagen na het verlaten van de infectiebron op de proefplant zuigen, dan wanneer zij dit in de periode van 1–10 dagen na het verlaten van de infectiebron doen. De overbrenging van het virus met *Arachis hypogaea* als infectiebron gaf even goede resultaten als wanneer *Crotolaria* als infectiebron werd gebruikt, maar de overbrenging van *Arachis* op *Arachis* ge-

[1]) Dit werk werd gedaan in samenwerking met Prof. Dr. H. C. C. A. A. Vos van de Entomologische afdeling van de Fakultas Pertanian.

FIG. 1. *Crotalaria usaramoensis:* Buitensporig uitlopen der okselknoppen
Marked proliferation of axillary buds

FIG. 2. *Crotalaria juncea:* Antholyse verschijnselen; rechts gezonde plant
Symptoms of antholysis; healthy plant on the right

FIG. 3. *Sesbania sericea:* Heksenbezemvorming
Witches' broom symptoms

FIG. 4.
Sesbania sericea: Overmatig uitlopen der knoppen in de oksels der blaadjes
Excessive outgrowth of axillary buds of leaflets

FIG. 5.
Indigofera suffruticosa: Heksenbezemvorming
Witches' broom symptoms

FIG. 6. *Vigna sinensis:* Lichte vorm van heksenbezem
Mild form of witches' broom

FIG. 7. *Glycine soja:*
Rechts: Overmatige ontwikkeling van „pseudopeulen" bij zieke plant
Links: gezonde plant
Right: Excessive development of pseudo pods on diseased plant
Left: healthy plant

FIG. 8. *Glycine soja:* Normale en pseudopeulen
Normal and pseudo pods

EL 1. Overbrenging van heksenbezemvirus door *Orosius argentatus* op proefplanten, nadat de cicaden eerst 10 dagen gezogen hebben op zieke planten. Reeks I: insecten 10 dagen op proefplanten. Reeks II: insecten 10 dagen op proefplanten na eerst 10 dagen op de proefplanten van reeks I te hebben geleefd.

Transmission of witches' broom by Orosius argentatus to testplants after a 10 days acquisition feeding period on diseased plants. Series I: insects 10 days on testplants. Series II: insects 10 days on testplants immediately after a stage of 10 days on the testplants of series I.

Proef *xperiment*	Voedingsperiode op *Acquisition period on*	Reeks *Series*	Overbrenging op *Transmission to*	Aantal getoetste planten *Number of plants tested*	Aantal dagen verlopen voor het verschijnen van de symptomen *Number of days till appearance of symptoms*
	Crotalaria juncea, gezond *healthy*	I	*C. juncea*	0/3[1])	
:.–mei		II	,,	0/3	
6	,, ,, ziek *diseased*	I	,,	0/3	
r.–May		II	,,	2/3	35, 38
6	*Arachis hypogaea*, gezond *healthy*	I	*A. hypogaea*	0/3	
		II	,,	0/3	
	,, ,, ziek *diseased*	I	,,	0/3	
		II	,,	0/3	
	Crotalaria juncea, ziek *diseased*	I	*A. hypogaea*	0/3	
		II	,,	0/3	
	Arachis hypogaea, ziek *diseased*	I	*C. juncea*	0/3	
		II	,,	1/3	43
	Arachis hypogaea, gezond *healthy*	I	*A. hypogaea*	0/3	
art–juni		II	,,	0/3	
6	,, ,, ziek *diseased*	I	,,	0/3	
rch–June		II	,,	2/3	32, 45
6	*Crotalaria juncea*, ziek *diseased*	I	,,	0/3	
		II	,,	2/3	46, 49
	,, ,, gezond *healthy*	I	*C. juncea*	0/3	
		II	,,	0/3	
	,, ,, ziek *diseased*	I	,,	0/3	
		II	,,	1/3	26
	Arachis hypogaea, ziek *diseased*	I	,,	1/3	23
		II	,,	2/3	23, 23
	Arachis hypogaea, gezond *healthy*	I	*A. hypogaea*	0/3	
–sept.		II	,,	0/3	
6	,, ,, ziek *diseased*	I	,,	0/3	
–Sept.		II	,,	0/3	
6	*Crotalaria juncea*, gezond *healthy*	I	*C. juncea*	0/3	
		II	,,	0/3	
	,, ,, ziek *diseased*	I	,,	0/3	
		II	,,	3/3	28, 32 en 32
	,, ,, ziek *diseased*	I	*A. hypogaea*	0/3	
		II	,,	2/3	62, 63
	Crotalaria usaramoensis, ziek *diseased*	I	*C. juncea*	0/3	
		II	,,	3/3	37, 44 en 62
	,, ,, ziek *diseased*	I	,,	0/3	
		II	,,	2/3	31,60
	Arachis hypogaea, ziek *diseased*	I	,,	1/3	39
		II	,,	2/3	20, 20

Aantal planten met symptomen/aantal geïnoculeerde planten.
Number of plants showing symptoms/number of plants inoculated

lukte minder vaak, namelijk slechts 2 maal tegenover, in andere gevallen, 4 tot 6 maal van de 18 inoculaties.

Met bovenstaande proeven werd aangetoond dat *Orosius argentatus* als vector van heksenbezemziekte kan fungeren. Dit maakt het aannemelijk dat de verspreiding van het virus van de ene *Crotalaria*-soort op de andere, zomede van *Crotalaria* op *Arachis* en omgekeerd in de natuur door middel van insecten plaats kan vinden.

Nabespreking

De vraag doet zich voor, in hoeverre de beschreven heksenbezemziekten identiek zijn met reeds beschreven ziekten, die door *Orosius argentatus* worden overgebracht. Mogelijk bestaat er een verband met de ziekte „little leaf", een virusziekte, beschreven door Hutton & Grylls (1956), die door middel van in het veld verzamelde *O. argentatus* overgebracht kan worden. Er zijn echter verschillen. Het „little leaf"-virus kan nl. andere plantesoorten aantasten dan het door ons onderzochte heksenbezemvirus. Ook slaagden Hutton & Grylls er niet in het „little leaf-"virus over te brengen met dieren uit een virusvrije kweek die eerst op zieke en daarna op gezonde planten hadden gezogen. Slechts een vergelijkend onderzoek zal het verband tussen de andere door *O. argentatus* overgebrachte virusziekten en de door ons onderzochte heksenbezemziekten aan het licht kunnen brengen.

Summary

This paper deals with the recent prevalence of witches' brooms on *Arachis hypogaea* (Thung, 1947), *Crotalaria anagyroides*, *C. juncea*, *C. striata* and *C. usaramoensis* (van Hall, 1926; Schwarz, 1927; Leefmans, 1927, 1929, 1934; Tojib Hadiwidjaja, 1952). The occurrence on the leguminous crops *Sesbania sericea*, *Indigofera suffruticosa*, *Glycine soja*, *Canavalia ensiformis*, *Phaseolus radiatus*, *P. calcaratus*, *P. lunatus*, *Vigna sinensis* and *Pachyrrhizus erosus* has also been ascertained; these species are mentioned in order of decreasing frequency of the disease.

The most striking symptoms are excessive branching, dwarfed leaflets, and deformation of flowers (antholysis). These symptoms are more or less pronounced, depending on the host plant species and the stage when infection occurred. The gynophores of *Arachis hypogaea* show negative instead of positive geotropism (Thung & Tojib Hadiwidjaja, 1951). Excessive branching is dominant in *Crotalaria usaramoensis* (Fig. 1), and antholysis in *C. juncea* (Fig. 2). On *Sesbania sericea* there is excessive branching from the axils of the leaves (Fig. 3) and sometimes even from the axils of the leaflets. Distinct symptoms of witches' broom are found in *Indigofera suffruticosa* (Fig. 5). In *Glycine soja* an abundant formation of dwarf „pseudo pods" occurs (Fig. 7 and 8), but no flowers or seed develop. An extraordinary proliferation of axillary buds is a characteristic symptom in *Phaseolus* spp. and *Vigna sinensis* (Fig. 6). In *Pachyrrhizus erosus*, witches' broom symptoms and atrophy of leaves were found only once.

The witches' broom diseases of *Arachis hypogaea*, *Vigna sinensis* (Thung, 1947) and *Crotalaria* (Thung & Tojib Hadiwidjaja, 1950; Tojib Hadiwidjaja, 1952) proved to be virus diseases. The disease of *Sesbania* was also shown by

grafting experiments to be a virus disease, but so far the virus nature of witches' broom of *Phaseolus*, *Glycine* and *Indigofera* has not been proved.

In no case was transmission by sap inoculation possible. BERGMAN (1956) succeeded once in transmitting witches' broom by *Orosius argentatus* EVANS. He also showed that *Orosius argentatus* transmitted a mosaic disease of *Arachis*. Experiments were therefore made on the transmission of witches' broom by *Orosius argentatus* with the help of Prof. Dr. Vos of the Entomological Division of the Fakultas Pertanian.

Virus-free larvae of *O. argentatus* were fed for 10 days on witches' broom diseased plants. The larvae were then fed for 10 days on healthy plants (series I) and after this for another 10 days on a second series of healthy plants (series II). The virus was successfully transmitted by *O. argentatus* in 24 out of 84 inoculations (see Table 1). Of the 24 successful transmissions only 2 were in series I, and 22 in series II. Transmission was as successful from *Arachis* as from *Crotalaria*. Only from diseased *Arachis* to healthy *Arachis* was transmission less successful; out of 18 inoculations only 2 resulted in infection, as compared with 4 to 6 in transmissions to other plants.

LITERATUUR

BERGMAN, B. H. H., – 1956. Het mozaiek I en de heksenbezemziekte van de aardnoot (*Arachis hypogaea* L.) in West Java en hun vector, de jasside *Orosius argentatus* (Evans). T.Pl.ziekten 62: 291–304.

HADIWIDJAJA, TOJIB, – 1952. De krul- of heksenbezemziekte van Crotalaria. T. Pl.ziekten 58: 1–4.

HALL, C. J. J. VAN, – 1926. Ziekten en plagen der cultuurgewassen in Ned. O. Indië in 1925. Meded. Inst. Pl.ziekten, no. 70.

HUTTON, E. M. & N. E. GRYLLS, – 1956. Legume little leaf a virus disease of subtropical pasture species. Austr. J. agr. Res. 7: 85–97.

LEEFMANS, S., – 1927. Ziekten en plagen der cultuurgewassen in Ned. O. Indië. Meded. Inst. Pl.ziekten. no. 73.

———, – 1929. Ziekten en plagen der cultuurgewassen in Ned. O. Indië. Meded. Inst. Pl.-ziekten. no. 75.

———, – 1934. Ziekten en plagen der cultuurgewassen in Ned. O. Indië. Meded. Inst. Pl.-ziekten. no. 82.

SCHWARZ, M. B., – 1927. Eenige ziekten van onbekenden aard bij groenbemesters. Korte Meded. Inst. Pl.ziekten. no. 5.

THUNG, T. H., – 1947. Virusziekten van Arachis hypogaea. Landbouw 19: 337–347.

THUNG, T. H. & HADIWIDJAJA, TOJIB, – 1950. Het overbrengen van viren met behulp van Cuscuta australis R.Br.I. T. Pl.ziekten 56: 349–351.

THUNG, T. H. & HADIWIDJAJA, TOJIB, – 1951. Groeistof in verband met virusziekten, in het bijzonder bij Arachis hypogaea. T. Pl.ziekten 57: 95–99.

Algemene ledenvergadering

De jaarvergadering vond op 11 april te Utrecht plaats. Het huishoudelijk gedeelte werd bijgewoond door 23 leden.

In zijn jaarverslag deelde de secretaris mede, dat het aantal leden en abonnees in 1956 weer is toegenomen. Per 31 december had de vereniging 938 leden en abonnees (binnenland 504 leden, 66 leden-donateur en 172 abonnees; buitenland 66 leden en 126 abonnees).

Zoals uit het verslag van de penningmeester bleek, is de financiële toestand bevredigend. In verband hiermede werd besloten met ingang van 1958 voorlopig geen bijdragen voor het Publicatiefonds meer te vragen.

De secretaris van de redactie wees er op, dat het afgelopen jaar de taalkundige en technische verzorging van de aangeboden manuscripten vaak veel te wensen overliet. Niet alleen kostte dit de redactieleden veel tijd, doch bovendien vertraagde het in sterke mate het verschijnen van het tijdschrift. In verband hiermede werd besloten, dat de redactie het bestaande stencil betreffende de richtlijnen te gebruiken bij het opstellen van een publikatie zal herzien. Getracht zal worden deze richtlijnen op een doeltreffende wijze onder de aandacht van de leden te brengen.

Dr. J. G. TEN HOUTEN trad af als voorzitter van het bestuur. Zijn opvolger, Dr. P. M. L. TAMMES, bedankte hem hartelijk voor de prettige en animerende wijze waarop hij de vergaderingen in de afgelopen 6 jaren heeft geleid.

Dr. P. A. VAN DER LAAN droeg zijn functie van 1e penningmeester over aan Dr. A. P. KOLE. De voorzitter wees er op, dat vooral door de reorganisatie, die de Heer VAN DER LAAN heeft doorgevoerd, het beheer van de financiën de laatste jaren sterk is verbeterd en vereenvoudigd.

Dr. C. MASTENBROEK werd herkozen als bestuurslid.

De middag werd besteed aan het wetenschappelijk gedeelte van de vergadering. Aanwezig waren toen 75 leden.

Dr. J. J. POST gaf eerst een overzicht van de klimaatverschillen, die in ons land voorkomen. Daarna besprak hij een laboratorium-onderzoek over de invloed van stralingswarmte op het uitkomen van poppen van het fruitmotje.

Drs. D. J. DE JONG lichtte de invloed van het klimaat op insekten toe. Zijn eigen onderzoek wees uit, dat alleen indien de temperatuur één uur voor zonsondergang 15 °C of hoger is, de omstandigheden gunstig zijn voor het afzetten van eieren door het fruitmotje.

Ir. A. M. VAN DOORN gaf een uitgebreid overzicht van de klimaatsfactoren, die het optreden van schimmelziekten beïnvloeden. Hij lichtte een en ander toe met voorbeelden uit zijn onderzoek over de valse meeldauw bij uien. Aan de hand van een in 16 sectoren verdeeld cirkelvormig proefveld kon de invloed van het weer op het optreden van de ziekte nader worden bestudeerd.

Ir. A. B. R. BEEMSTER behandelde het onderwerp klimaat en virusziekten, waarbij vanzelfsprekend ook de insekten weer ter sprake kwamen. Het optreden van het stoppelknollenvirus, dat in september 1949 in zo ernstige mate voorkwam, doch nadien niet meer werd waargenomen, blijkt afhankelijk te zijn van een periode met hoge temperaturen (25 °C) gedurende genoemde maand.

DE SECRETARIS